

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

HEPATITIS C

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A

ERIKA CRISTINA ALONSO RAMÍREZ

ASESORA DE TESIS
DRA. GILDA FLORES ROSALES



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Gracias a Dios por haber permitido el poder terminar mi carrera y por darme TODO lo que tengo.

Gracias a mi Madre por haberme dado la vida, por regalarme estudios profesionales, por su apoyo moral y económico, por su comprensión y paciencia, por que todo me lo dio con mucho amor y por hacer de mi la mujer que soy.

Gracias a mi Abuelita Cristina, por cuidarme, quererme y dejarme todo su legado, su amor, su fuerza y hacer de mi la mujer que soy.

Gracias a mi Hermano Oscar, por ser mi compañía, por su apoyo, consejos, inteligencia y humor que iluminan mi vida.

Gracias a mis tios: Jorge, Elvira, Silvia, Mario, Martha Patricia, Gregorio y mis tíos políticos; por su apoyo moral y económicos recibidos.

Gracias a todos mis primos por su apoyo, consejos y amistad.

Gracias, con profunda admiración y respeto a la Dra. Gilda Flores Rosales, por el apoyo, la comprensión y la paciencia para la realización de éste trabajo.

Gracias a mis amigos, por su apoyo moral, por escucharme y aconsejarme, por estar conmigo en buenos y malos momentos.

Gracias a todos los profesores de la Facultad, por su paciencia y dedicación con que forman profesionistas.

Gracias a todos y cada uno de mis compañeros de la Facultad por su fuerza que impulsa salir adelante.

Gracias a mis sinodales, por su tiempo y consejos en la revisión de éste trabajo.

De corazón GRACIAS.

DEDICATORIAS

Dedico éste trabajo a la mujer que me lo ha dado todo, empezando por la vida, a mi Madre, por su entrega, empeño, dedicación y amor infinito, mis logros también son sus logros. ¡Si pudimos Má!

A mi Abuelita, aunque físicamente no éste conmigo, está presente en mi pensamiento y corazón todo el tiempo, y su legado y enseñanzas son fundamentales en mi vida. ¡Desde el cielo recíbelo por que también es tu logro!

A mi Hermano, por que eres muy importante en mi vida, te lo dedico como una prueba de que todo lo que se quiere se puede lograr con empeño y dedicación. ¡Sigue adelante!

A toda la familia Alonso Ramírez, por ser mi familia y brindarme su apoyo en todo.

A la Dra. Gilda Flores, por representar un apoyo y un estímulo para la terminación de mis estudios y seguir adelante en mi vida profesional.

A todas las personas que no tuvieron oportunidad de realizar estudios profesionales, pero que con su trabajo y entrega también hacen posible la grandeza de nuestro país.

ÍNDICE

Capítulo	Página
LISTA DE TABLAS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE ABREVIATURAS	vi
GLOSARIO	vii
1.0 ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE HÍGADO	
1.1 Anatomía	1
1.2 Fisiología	4
1.2.1 Metabolismo de carbohidratos	5
1.2.2 Metabolismo de proteínas	5
1.2.3 Metabolismo de lípidos	6
1.2.4 Síntesis y secreción de proteínas plasmáticas	6
1.2.5 Funciones de solubilización, transporte y almacenamiento	7
1.2.5. Circulación enterohepática de los ácidos biliares.	7
1 Función detoxificadora	7
1.2.5. Funciones fagocitarias y endocíticas	8
2 Metabolismo del amoniaco y síntesis de glutatión	8
1.2.5.	
3	
1.2.5.	
4	
OBJETIVO	12
2.0 HEPATITIS	
2.1 HEPATITIS TÓXICA	13
2.2 HEPATITIS VIRAL	17
2.2.1 Hepatitis A	19
2.2.2 Hepatitis B	20
2.2.3 Hepatitis C	22
2.2.4 Hepatitis D	23
2.2.5 Hepatitis E	24

2.2.6	Hepatitis G	25
2.3	CARACTERÍSTICAS DE LA HEPATITIS C	
2.3.1	Patogenia y respuesta inmune	26
2.3.2	Cuadros clínicos	29
2.3.2.	Hepatitis C aguda	29
1		
2.3.2.	Hepatitis C crónica	30
2		
2.3.3	Infección por VHC y carcinoma hepatocelular	33
2.3.4	Cirrosis hepática	34
2.3.5	Manifestaciones extrahepáticas de la infección por VHC	35
2.4	VIRUS DE LA HEPATITIS C	
2.4.1	Taxonomía	35
2.4.2	Morfología y estructura del VHC	38
2.4.3	Estructura genómica	39
2.4.4	Proteínas del VHC	42
2.4.5	Diversidad genética del VHC y genotipos	45
2.4.6	Replicación del VHC	48
2.4.7	Ensamblaje del virión	50
2.4.8	Seropositividad	52
2.4.9	Viremia	52
2.4.10	Cuasispecies	53
2.4.11	Distribución de los genomas de las cuasispecies	53
3.0	DIAGNÓSTICO DE LA HEPATITIS	
3.1	DIAGNÓSTICO DE LA HEPATITIS A	55
3.2	DIAGNÓSTICO DE LA HEPATITIS B	57
3.2.1	Diagnóstico de la hepatitis B crónica	59
3.3	DIAGNÓSTICO DE LA HEPATITIS C	62
3.3.1	Diagnóstico serológico de infección por VHC	63
3.3.1.	Pruebas de primera generación	63
1		
3.3.1.	Pruebas de monitoreo	64
2		
3.3.1.	Pruebas de confirmación y otras pruebas suplementarias	65
3		
3.3.1.	Pruebas de segunda y tercera generación	66
4		
3.3.1.	Otras pruebas serológicas	67
5		
3.3.2	Detección del RNA del VHC	68
3.3.2.	Reacción en cadena de la polimerasa previa transcripción reversa	69

1		
3.3.3	Identificación de los genotipos infectantes	71
3.3.3.	Genotipado del VHC	71
1		
3.3.4	Pruebas de serotipado del VHC	75
3.3.4.	Pruebas de genotipado versus serotipado	76
1		
3.3.5	Relación de la respuesta serológica con la presencia del RNA-VHC y el grado de afectación hepática.	78
3.3.6	Relación entre la presencia de IgM-VHC y RNA-VHC y grado de afectación hepática	80
3.3.7	Relación de los genotipos con el cuadro clínico hepático	81
3.3.8	Relación entre la respuesta serológica y el genotipo del VHC	83

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL DE LA HEPATITIS C

4.0		
4.1	EPIDEMIOLOGÍA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C	84
4.1.1	Distribución mundial de los genotipos	85
4.2	SITUACIÓN EN MÉXICO	86
4.3	FORMAS DE TRANSMISIÓN	89
4.3.1	Parenteral	89
4.3.1.	Postransfusional	89
1		
4.3.1.	Hemodiálisis	90
2		
4.3.1.	Usuarios de drogas por vía parenteral	90
3		
4.3.1.	Transplante de órganos	90
4		
4.3.1.	Personal laboral sanitario	90
5		
4.3.1.	Tatuajes y transgresiones cutáneas	90
6		
4.3.2	No parenteral	90
4.3.2.	Transmisión sexual	91
1		
4.3.2.	Transmisión intrafamiliar	91
2		
4.3.2.	Transmisión vertical madre-hijo	91
3		
4.3.2.	Cocaína inhalada	92
4		
4.3.3	Grupos de riesgo	92
4.4	TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR VIRUS DE LA HEPATITIS C	

4.4.1	Tratamiento de la hepatitis C crónica	93
4.4.2	Tratamiento actual de la hepatitis C crónica	94
4.4.2.	Factores predictivos de respuesta	97
1		
4.4.2.	Monitorización y efectos adversos del tratamiento	99
2		
4.4.2.	Control del tratamiento	100
3		
4.4.2.	Pacientes no respondedores al tratamiento	100
4		
4.4.2.	Pacientes con recidiva tras monoterapia con interferón	101
5		
4.4.2.	Tratamiento en otras situaciones de infección por el VHC	101
6		
4.4.3	Futuro de la terapia de la infección por VHC	102
4.4.3.	Inhibidores de la proteasa en el tratamiento de la hepatitis C	103
1		
4.4.3.	Ácido ursodesoxicólico	104
2		
5.0	CONCLUSIONES	105
6.0	BIBLIOGRAFÍA	107

LISTA DE TABLAS

Tabla

Página

1	Funciones del hígado normal	9
2	Principales alteraciones de la morfología hepática producida por algunos fármacos	15
3	Regiones genómicas, proteínas y porcentaje de variabilidad	40
4	Aplicaciones de la detección del RNA del virus de la hepatitis C	69
5	Técnicas más utilizadas para la detección del RNA del virus de la hepatitis C	70
6	Métodos utilizados en la detección de genotipos del VHC	72
7	Distribución geográfica de los genotipos del VHC	86
8	Número de defunciones por hepatitis C	89

LISTA DE FIGURAS

Figura

Página

1	Localización anatómica del hígado	1
2	Representación gráfica de las tres concepciones de la unidad funcional del hígado	3
3	Ultraestructura de una célula hepática	4
4	Síndromes clínicos relacionados con hepatitis	18
5	Estructura del virus de la hepatitis A	20
6	Estructura del virus de la hepatitis B	21
7	Estructura representativa de los <i>flavivirus</i>	23
8	Estructura antigénica del VHC comparada con los <i>flavivirus</i> y <i>pestivirus</i>	37
9	Organización del genoma del VHC	41
1	Diagrama de la posición relativa de los marcos abiertos de lectura (ORF)	
0	dentro de la región 5' NC del VHC	42
1	Esquema donde se postula el ciclo de replicación del VHC derivado de	
1	investigaciones del VHC y de otros virus de cadena positiva	51
1	Esquema de las manifestaciones clínicas y de laboratorio típicas	
2	producidas por el virus de la hepatitis A	57
1	Esquema de las manifestaciones típicas y de laboratorio de la hepatitis	
3	viral aguda tipo B	62
1	Partículas virales del VHC	63
4		
1	Antígenos del VHC utilizados en las pruebas de primera y segunda	
5	generación	64

1	Esquema de la identificación de genotipos con la prueba de Inno-Lipa	
6	HCV	74
1	Distribución mundial de la prevalencia de la hepatitis C	85
7		

GLOSARIO

Amplicones	Híbridos DNA-DNA
Anorexia	Falta de apetito
Artralgia	Neuralgia o dolor en una articulación
Ascitis	Acumulación de líquido en la cavidad peritoneal por exudación o trasudación
Astenia	Falta de fuerza
Cápside	Envoltura del genoma viral, formada por capsómeros
Cardiopatía isquémica	Trastorno cardíaco en la que hay detención de la circulación arterial
Compartimentalización	Acción de formar compartimentos
Colestásis	Supresión o detención del flujo de la bilis
Epítomos	Parte específica de una macromolécula a la que se une un anticuerpo. Determinante antigénico
Esclerosis	Endurecimiento de tejido intersticial de un órgano, consecutiva a la inflamación
Esplenomegalia	Crecimiento del bazo
Esteatosis	Infiltración o degeneración adiposa en los elementos anatómicos
Fiebre amarilla	Enfermedad viral infecciosa, endémica en América tropical y Senegal, caracterizada por degeneración adiposa en el hígado y congestión de las mucosas del estómago e intestinos
Glomerulonefritis	Enfermedad inflamatoria renal con lesión en los glomérulos

Hemocromatosis	Trastorno hematológico caracterizado por acumulación de hierro en sangre de circulación
Hemograma	Cuadro o fórmula sanguínea en el que se expresa el número, proporción y variaciones de los elementos celulares de sangre periférica
Hepatoma	Tumor en el hígado
Hepatotropo	Cualquier sustancia o virus que son afines al hígado
Homeostasia	Tendencia al equilibrio orgánico, en la conservación de las constantes fisiológicas
Letargia	Estado patológico de sueño profundo y prolongado
Leucopenia	Reducción del número de leucocitos por debajo de 5000
Pegilación	Interferón α -2 a modificado por adherencia con polietilenglicol
Periportales	Región alrededor de la vena porta
Plaquetopenia	Disminución del número de plaquetas
Poliproteína	Péptido que genera mas de diez proteínas
Porfiria cutánea	Trastorno metabólico, caracterizado por fotosensibilidad, aparición de ampollas en zonas cutáneas expuestas a roce y enfermedad hepática
Prurito	Sensación que incita a rascarse
Primers	Cebadores
Quiesciencia	Estado de reposo o de inactividad
Queratoconjuntivitis	Inflamación de la córnea y la conjuntiva
Retinopatía	Termino general para las enfermedades de la retina
Ribarvirina	Antivírico utilizado para disminuir la replicación viral y la inflamación
Seroconversión	Detección en suero de la conversión de negativo a positivo de una enfermedad
Sialodentitis linfocítica	Inflamación de glándulas salivales, debido a trastornos linfocitarios
Tirosinosis	Error metabólico de la tirosina, en el que se produce ácido hidroxifenilpirúvico

Vasculitis	Inflamación de los vasos sanguíneos
Xenobiótico	Toda sustancia ajena al organismo que puede ser benéfica o nociva

LISTA DE ABREVIATURAS

Ac	Anticuerpo
Ag	Antígeno
ALT	Alanin aminotransferasa
Anti-HBc	Anticuerpos del core de la hepatitis B
Anti-HBe	Anticuerpos e del virus de la hepatitis B
Anti-HBs	Anticuerpos de superficie de la hepatitis B
Anti-VHA	Anticuerpo contra hepatitis A
Anti-VHC	Anticuerpos contra el virus de la hepatitis C
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EIA	Enzimoimmuno ensayo
GGTP	Gammaglutamiltranspeptidasa
HBeAg	Antígeno e de la hepatitis B
HBsAg	Antígeno de superficie de la hepatitis B
HCC	Hepatocarcinoma
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HVR1	Región hipervariable 1
IgG	Inmunoglobulina G
IgM	Inmunoglobulina M
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
ORF	Marco abierto de lectura
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
RIBA-1	Inmunoblot con antígenos recombinantes
RNA	Ácido ribonucleico
SOD	Superóxido dismutasa
TSH	Hormona estimulante de la tiroides
VHA	Virus de la hepatitis A
VHB	Virus de la hepatitis B
VHC	Virus de la hepatitis C
VHD	Virus de la hepatitis D

VHE	Virus de la hepatitis E
VHG	Virus de la hepatitis G
VIH	Virus de Inmunodeficiencia humana
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
VSG	Velocidad de sedimentación globular

1.0 ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE HIGADO

1.1 Anatomía

El hígado es la glándula con mayor peso, cercano a 1400 gramos en un adulto de talla promedio, y es el órgano más grande después de la piel. Está localizado en el cuadrante superior derecho del abdomen, en el espacio peritoneal, justo en la parte inferior del diafragma derecho y por debajo de la caja torácica, como se observa en la figura 1 (Mc Phee, 2001).

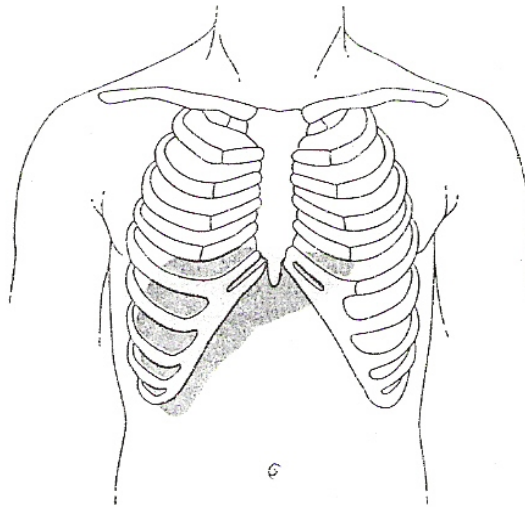


Figura 1. Localización anatómica del hígado (Mc Phee, 2001).

El hígado está constituido por una masa única, dividida en dos lóbulos, derecho e izquierdo, por el ligamento falciforme. Visto por su cara inferior se distinguen otros dos lóbulos de menor tamaño, el lóbulo caudado y el lóbulo cuadrado. Toda su superficie está recubierta por el peritoneo visceral y la cápsula de Glisson (Tortora,2002).

Recibe aproximadamente 1500 ml de sangre por minuto por dos vías principales: el flujo venoso que aporta el 75% de la sangre total, proveniente de la vena porta hepática, que lleva al hígado la sangre venosa proveniente del intestino delgado, abundante en nutrimentos recién absorbidos, así como fármacos y venenos; también

desemboca en la vena porta, antes del ingreso de ésta en el hígado, el drenaje venoso pancreático, abundante en hormonas pancreáticas como insulina, glucagón, somatostatina y polipéptido pancreático. La vena porta forma un lecho capilar especializado el cuál permite que los hepatocitos individuales queden bañados directamente por la sangre de la vena porta.

El 25% restante de sangre, lo aporta el flujo arterial proveniente de la arteria hepática, que tiene importancia en la oxigenación hepática y en el suministro al sistema biliar. Ambos vasos convergen en el interior del hígado y en las denominadas venas centrales sale el flujo sanguíneo combinado que desemboca en la vena hepática y finalmente en la vena cava inferior (Mc Phee, 2001).

El parénquima hepático, esta organizado en placas de hepatocitos localizadas en una estructura de células de apoyo denominadas células reticuloendoteliales. Las placas de hepatocitos tienen el grosor de sólo una célula, y las placas individuales están separadas entre sí por espacios vasculares llamados sinusoides, es en estos sinusoides donde la sangre proveniente de la arteria hepática, se mezcla con la sangre proveniente de la vena porta en la vía de la vena central (Mc Phee,2001).

La masa de células reticuloendoteliales son de diversos tipos: las endoteliales que forman las paredes de los sinusoides, los macrófagos especializados llamados células de Kupffer y las células estrelladas o lipocitos, células almacenadoras de grasa. Las células reticuloendoteliales, son mucho más que un soporte para los hepatocitos ya que realizan funciones específicas como la fagocitosis, la secreción de citocinas y se comunican entre sí (Tortora,2002).

Bajo el microscopio se observa que las placas de hepatocitos se organizan en claros arreglos alrededor de las venas centrales para formar hexágonos con las triadas o espacios porta (estructuras que tienen una vena porta, una arteriola hepática y canalículos biliares) en las esquinas. Esta estructura hepática se ha descrito tradicionalmente como lobulillo hepático. El lobulillo portal, presenta forma triangular y se halla dentro de un espacio porta y delimitado en cada vértice por tres o más venas centrales, su eje es el espacio porta como se observa en la figura 2 (Ham,1998).

Desde el punto de vista fisiológico, tiene más utilidad pensar en la arquitectura hepática en la dirección porta-centro del flujo sanguíneo, y es el ácino hepático el que representa la mínima unidad funcional, se compone de la cantidad de parénquima hepático que se encuentra entre dos venas centrales e incluye ramificaciones terminales de la arteria hepática, la vena porta y el sistema de vías biliares como ejes. Las células de cada ácino forman unidades funcionales concéntricas, las más cercanas al eje reciben sangre más rica en oxígeno y sustancias nutritivas que las células de las zonas periféricas (Genesser,2002).

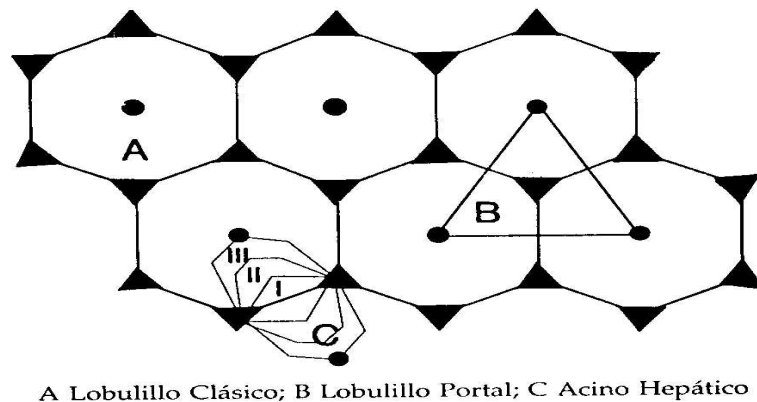


Figura 2. Representación gráfica de las tres concepciones de la unidad funcional del hígado (Herrerías, 1996).

Las células hepáticas o hepatocitos tienen forma poliédrica de aproximadamente 30 micrometros de diámetro, su núcleo es central y único con uno ó más nucleolos, el citoplasma tiene un aspecto granular y contiene gran cantidad de glucógeno, el núcleo ostenta una doble membrana con poros que permiten el intercambio con el citoplasma. El retículo endoplásmico corresponde a los microsomas celulares, aparece como un sistema de túbulos y vesículas limitadas por membranas. El resto del citoplasma contiene gránulos de glucógeno, lípidos y pigmentos. En la figura 3 se

puede observar la estructura general de una célula hepática (Herrerías, 1996).

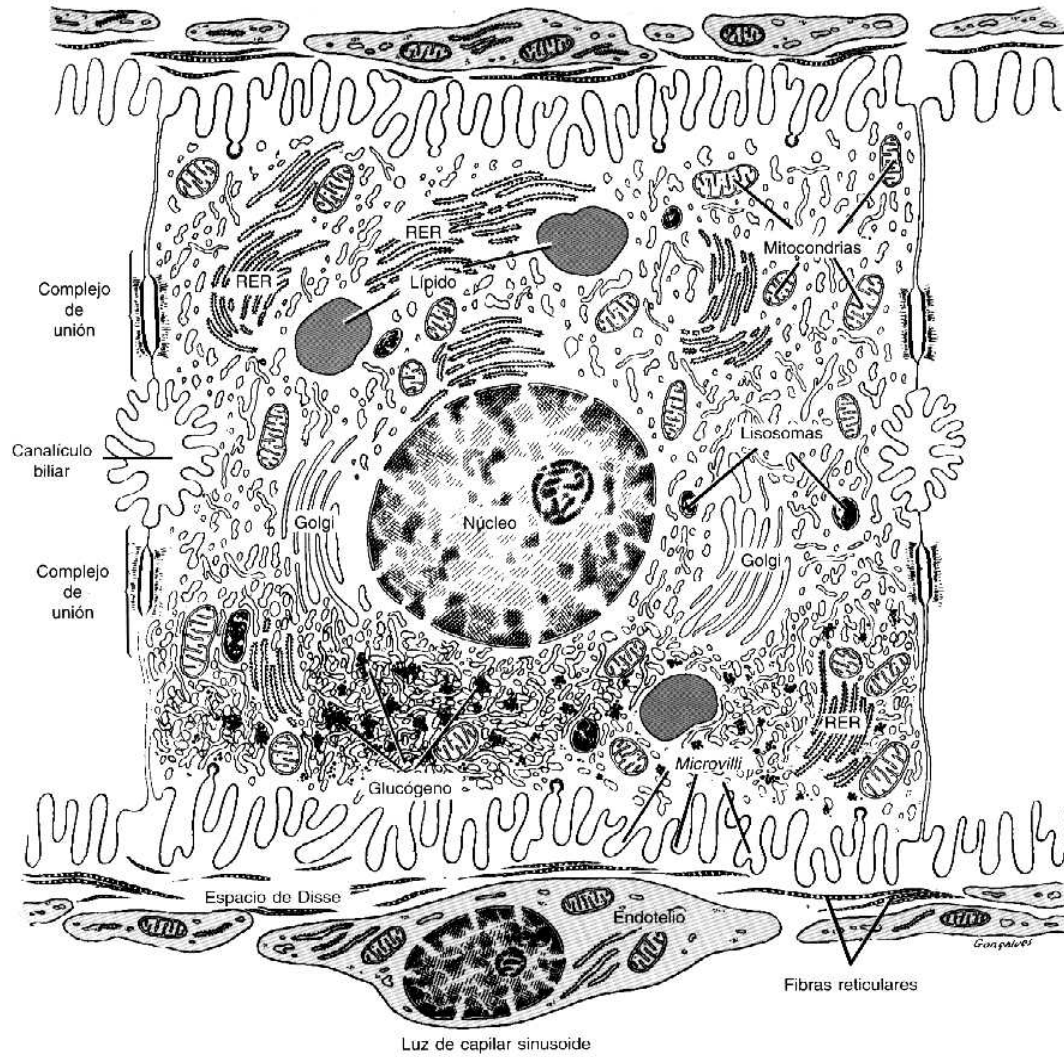


Figura 3. Ultraestructura de una célula hepática (Junqueira, 2002).

Los productos exócrinos de los hepatocitos, los constituyentes de la bilis, son elaborados y descargados en finas vías intercelulares llamados conductillos biliares, la secreción interna que elaboran los hepatocitos son entre otras; glucosa, proteínas plasmáticas y lipoproteínas que pasan a torrente sanguíneo. Por ello se describe al hígado como una glándula endocrina y exócrina (Ham,1998).

2 Fisiología

El hígado interviene en la mayoría de los procesos metabólicos del organismo, gran parte de los carbohidratos, los lípidos y proteínas se sintetizan metabolizan e interconvierten en el hígado, y los productos se retiran o liberan del torrente sanguíneo en respuesta a las necesidades de energía y sustratos corporales.

1.2.1 Metabolismo de los carbohidratos

En el metabolismo de los carbohidratos, el hígado efectúa funciones como: almacenamiento de glucógeno, conversión de galactosa, gluconeogénesis, así como formación de muchos compuestos químicos importantes partiendo de los productos intermedios del metabolismo de la glucosa. El hígado es particularmente importante para mantener la concentración de glucosa en la sangre. Por ejemplo, el almacenamiento de glucógeno permite que el hígado suprima un exceso de glucosa en la sangre, la almacene y la devuelva a la circulación cuando la concentración sanguínea de glucosa empiece a disminuir, ésta es una función amortiguadora de la glucosa en el hígado.

La gluconeogénesis en el hígado está destinada a mantener la concentración sanguínea de glucosa dentro de los límites normales, ya que sólo tiene lugar cuando la concentración de la glucosa empieza a disminuir por debajo de valores normales, en éste caso, grandes cantidades de aminoácidos son convertidos en glucosa, con lo cuál se ayuda a mantener la glucemia (Robbins,2004).

1.2.2 Metabolismo de las proteínas

El hígado es un sitio importante para los procesos de desaminación y transaminación oxidativas. Éstas reacciones permiten intercambiar a los grupos amino entre las moléculas con el objeto de generar sustratos para el metabolismo de los carbohidratos y para la síntesis de aminoácidos. De igual manera, el ciclo de la urea permite la excreción de nitrógeno en forma de urea, la cuál es menos tóxica que los el amoniaco (Mc Phee, 2001).

1.2.3 Metabolismo de lípidos

El hígado es el centro del metabolismo lipídico, fabrica casi el 80% del colesterol sintetizado en el cuerpo a partir de acetil-CoA en la vía que conecta los metabolitos de los carbohidratos con el correspondiente a los lípidos. Además el hígado puede sintetizar, almacenar y exportar triacilglicéridos. También es el sitio de producción de cetoácidos, en la vía de la oxidación de los ácidos grasos que conecta el catabolismo lipídico con la actividad del ciclo del ácido tricarboxílico.

En el proceso de controlar las concentraciones de colesterol y de triacilglicéridos corporales, el hígado ensambla, secreta y capta varias partículas lipoproteicas. Algunas de éstas proteínas de muy baja densidad VLDL, sirven para distribuir los lípidos al tejido adiposo con el objeto de su almacenamiento en forma de grasa o a otros tejidos con el propósito de su utilización inmediata. Las partículas de lipoproteínas de baja densidad (LDL), se regresan al hígado gracias a su afinidad por un receptor específico, el receptor para LDL, presente en la superficie de diversas células, entre las cuales se incluyen los hepatocitos. Otras partículas lipoproteicas, lipoproteínas de alta densidad (HDL), se sintetizan y se secretan a partir del hígado. Estas recolectan a los triacilglicéridos y el colesterol excesivos en otros tejidos y en el torrente sanguíneo para regresarlos al hígado, en el cual se excretan. Por tanto, la

secreción de las HDL y el retiro de las LDL son los mecanismos que permiten retirar de la circulación el exceso de colesterol que no se utiliza por los diferentes tejidos (Mc Phee, 2001).

1.2.4 Síntesis y secreción de proteínas plasmáticas

El hígado secreta y fabrica muchas de las proteínas presentes en el plasma, entre las cuales incluyen la albúmina, varios factores de la coagulación, cierta cantidad de proteínas fijadoras y además, ciertas hormonas y precursores hormonales. Las acciones de éstas proteínas dan al hígado funciones importantes en la conservación de la presión oncótica plasmática (albúmina sérica), en la coagulación (síntesis y modificación de factores de la coagulación), en la presión sanguínea (angiotensinógeno), en el crecimiento (factor 1 insulinoide del crecimiento), y en el metabolismo (proteínas fijadoras de esteroides y de hormona tiroidea) (Herrerías, 1996).

1.2.5 Funciones de solubilización transporte y almacenamiento

El hígado tiene una participación importante en la solubilización, transporte y almacenamiento de diferentes sustancias que, de otra manera, sería difícil para los tejidos obtenerlas o movilizarlas hacia dentro o hacia fuera de las células. Estas funciones las realizan células específicas en el hígado mediante la fabricación de proteínas especializadas, los cuales sirven como receptores, proteínas fijadoras o enzimas y son:

1.2.5.1 Circulación enterohepática de los ácidos biliares

La bilis es una sustancia de tipo tensoactivo sintetizada por el hígado que permite la disolución en un ambiente acuoso de sustancias de otra manera insolubles, para su transporte al interior o al exterior del cuerpo. Los ácidos biliares son un componente importante de la bilis. Las sales biliares recirculan en la vía denominada circulación

enterohepática entre el hígado y los intestinos. Una vez que la bilis se sintetiza y transporta al interior de los canalículos biliares a partir del citoplasma del hepatocito, se colecta en las vías biliares y se excreta al duodeno en la vía del colédoco. Las sales biliares conjugadas y no conjugadas se captan en el ileón terminal y se transportan desde los enterocitos al flujo sanguíneo porta. La sangre del sistema porta regresa dichas sales al hígado y en éste, proteínas transportadoras especializadas, las reingresan al citosol del hepatocito. Las sales biliares son objeto de reconjugación ó secreción, junto con otros componentes como pigmentos y colesterol, (Genesser,2000).

1.2.5.2 Función detoxificadora

El organismo se enfrenta a diario con sustancias ajenas al mismo (xenobióticos), que llegan desde el exterior con el alimento o como medicamentos y que deben ser eliminados del organismo. El metabolismo de los medicamentos (biotransformación) se realiza mediante dos reacciones consecutivas: el metabolismo en fase 1 que incorpora a la molécula extraña grupos activos mediante oxidación, reducción o hidrólisis, y el metabolismo en fase 2 donde se crean enlaces solubles en agua mediante acoplamiento (conjugación) con elementos de la reacción hidrosolubles para dar lugar a una forma hidrófila que se puede eliminar por la vía biliar o renal (Pfreundschuh, 2002).

1.2.5.3 Funciones fagocitarias y endocíticas

El hígado ayuda a retirar las bacterias y los antígenos que traspasan las defensas del intestino para ingresar a la sangre porta, depura la circulación de los desechos celulares generados de manera endógena. Los receptores especializados en la superficie de la célula de Kupffer unen a glucoproteínas, o al material recubierto con inmunoglobulina, o al Complemento y así, permiten el reconocimiento y retiro de las proteínas plasmáticas dañadas, de los factores de coagulación activados, de los complejos inmunitarios, de las células sanguíneas que empiezan a envejecer, etc. (Mc

Phee, 2001).

1.2.5.4 Metabolismo del amoniaco y síntesis de glutatión

El amoniaco generado a partir de la desaminación de los aminoácidos se metaboliza dentro de los hepatocitos en una sustancia mucho menos tóxica, la urea (Mc Phee).

El glutatión constituye el principal reactivo reductor intracelular y, por tanto, es esencial para prevenir la lesión oxidativa de las proteínas celulares. Esta molécula consiste en un tripéptido el cuál también es un sustrato para muchas de las reacciones de conjugación de la fase II detoxificante de los fármacos, el hígado también puede exportar glutatión para que se utilice en otros tejidos (Mc Phee,2001). En la tabla 1 se resumen las funciones más importantes que lleva a cabo el hígado normal.

Tabla 1. Funciones del hígado normal

continuación

Metabolismo de energía e interconversión de sustratos	Producción de glucosa por gluconeogénesis y glucogenólisis Consumo de energía por vía de síntesis de glucógeno, síntesis de ácidos grasos, glucólisis y ciclo del ácido tricarboxílico Síntesis de colesterol a partir de acetato, síntesis de triglicéridos a partir de ácidos grasos y secreción de ambos en partículas de VHDL Captación de colesterol y triglicéridos por endocitosis de partículas de HDL Y LDL con excreción del colesterol en la bilis, β - oxidación de ácidos grasos y conversión del exceso en acetyl-CoA en cetonas Desaminación de aminoácidos y conversión del amoniaco en urea a través del ciclo de la urea Transaminación y síntesis de aminoácidos no esenciales
---	--

Funciones de Síntesis proteica	Síntesis de varias proteínas plasmáticas, entre ellas albúmina, factores de la coagulación, proteínas fijadoras, apolipoproteínas, angiotensinógeno y factor de crecimiento I similar a la insulina.
--------------------------------	--

<p data-bbox="240 1234 594 1346">Funciones de solubilización, transporte y almacenamiento</p> <p data-bbox="240 1675 594 1749">Funciones protectoras y de depuración</p>	<p data-bbox="618 1016 1469 1127">Detoxificación de fármacos y toxinas a través de reacciones de biotransformación de fase I y II, y excreción en la bilis</p> <p data-bbox="618 1161 1469 1234">Solubilización de grasas y vitaminas liposolubles por la bilis para captación de los enterocitos</p> <p data-bbox="618 1268 1469 1379">Síntesis y secreción de partículas de lipoproteínas VLDL y pre-HDL, y depuración de HDL, LDL y quilomicrones remanentes</p> <p data-bbox="618 1413 1469 1562">Síntesis y secreción de varias proteínas fijadoras, como transferrina, globulina fijadora de hormonas esteroideas, globulina fijadora de hormona tiroidea, ceruloplasmina y metalotioneína</p> <p data-bbox="618 1596 1469 1669">Captación y almacenamiento de vitaminas A, D, B12 y folato</p> <p data-bbox="618 1703 1409 1749">Detoxificación de amoniaco mediante el ciclo de la urea</p> <p data-bbox="618 1782 1469 1856">Detoxificación de fármacos a través de oxidasas microsomales y sistemas de conjugación</p>
--	--

	<p>Síntesis y exportación de glutatión</p> <p>Depuración de células y proteínas dañadas, hormonas, fármacos y factores de la coagulación activados a partir de la circulación porta</p> <p>Depuración de células y antígenos a partir de la circulación porta.</p>
--	--

(Mc Phee, 2001).

El hígado puede ser afectado por muchas sustancias y múltiples factores, situado en el cruce de caminos entre el aparato digestivo y el resto del organismo, es el responsable del enorme trabajo que es el mantenimiento de la homeostasia metabólica del organismo, que supone al procesamiento de los aminoácidos, carbohidratos, lípidos y vitaminas de la dieta, la síntesis de proteínas séricas y la desintoxicación metabólica y excreción hacia la bilis de los productos de desecho endógenos y las sustancias extrañas. Por tanto, las consecuencias de las hepatopatías tienen un gran alcance, debido a la dependencia crítica de otros órganos de la función metabólica del hígado.

Las agresiones de tipo metabólico, tóxico, microbiano y circulatorio son capaces de provocar una lesión hepática. En algunos casos, el proceso patológico es primario en el hígado, en otros, la afectación hepática es secundaria, a menudo asociada a alguno de los trastornos más frecuentes del ser humano, como la descompensación cardiaca, o las infecciones extrahepáticas. La reserva funcional del órgano enmascara en cierta medida la repercusión clínica de las lesiones hepáticas iniciales. De cualquier manera cuando una enfermedad difusa progresa o se produce una interrupción estratégica de la circulación o del flujo biliar, las consecuencias de la alteración funcional hepática pueden llegar a poner en peligro la vida del paciente (Robbins,2004).

OBJETIVO

Realizar una investigación bibliográfica, seleccionando información de libros, revistas y algunos sitios electrónicos, para integrarla y actualizar los aspectos más importantes de la hepatitis C, que sea accesible al público en general y sirva como medida preventiva.

2.0 HEPATITIS

Si bien muchos agentes patógenos y diversos procesos pueden afectar el hígado, ambos por lo general se presentan en un paciente con sintomatología limitada, lo cuál puede valorarse mediante el análisis de algunos parámetros importantes.

La enfermedad hepática puede presentarse aguda o crónica, leve o intensa, y reversible o irreversible. La mayoría de los casos de enfermedad hepática aguda son tan leves que nunca reciben atención médica (Mc Phee, 2001).

Todo proceso inflamatorio del hígado es una hepatitis, la lesión de los hepatocitos asociada a la llegada de células inflamatorias agudas o crónicas al hígado recibe el nombre de hepatitis, el término se utiliza para designar un daño difuso que afecta a todo el órgano y que se acompaña de reacción inflamatoria intersticial y signos de regeneración (Robbins, 2004).

2.1 Hepatitis tóxica

El hígado es la principal defensa del organismo frente a sustancias tóxicas, es el órgano diana de numerosos tóxicos. La vía más común de exposición es la oral, las sustancias que se introducen en el cuerpo por vía del tracto gastrointestinal tienden a pasar por la vía hepática y llegan al hígado en cantidades y concentraciones apreciables (Herrerías, 1996).

La hepatitis puede ser causada por muchos fármacos y agentes tóxicos, así como por múltiples virus y las manifestaciones pueden ser diferentes. Las toxinas hepáticas o hepatotoxinas constituyen un grupo heterogéneo de sustancias químicas, naturales ó sintéticas, que producen una variedad de lesiones en el hígado, denominadas hepatitis tóxicas (Tierney, 2003).

El hígado tiene una alta capacidad de unión no específica a los agentes químicos en virtud de su tamaño y alta concentración celular de proteínas, además contiene concentraciones elevadas de enzimas metabolizadoras de drogas, que con frecuencia causan la formación de metabolitos tóxicos, por lo que el hígado es especialmente vulnerable a la toxicidad inducida metabólicamente, ésta se asocia generalmente a agentes liposolubles (Herrerías,1996).

Los xenobióticos que pueden producir una lesión hepática dependiente de la dosis en humanos y animales de experimentación son considerados como hepatotoxinas verdaderas (predecibles) directas o indirectas, mientras que los que producen lesión hepática, en individuos no susceptibles, no dependiente de la dosis, son llamados hepatotoxinas idiosincrásicas (no predecibles) (Herrerías,1996).

Las hepatotoxinas indirectas actúan interfiriendo la función del hepatocito, interrumpiendo rutas o procesos metabólicos específicos, esto tiene como consecuencia la alteración secundaria de la estructura o la invalidación de una función. La lesión estructural es secundaria a la lesión metabólica, mientras que la producida por hepatotoxinas directas es primaria y conlleva a una alteración metabólica. El daño hepático producido por hepatotoxinas indirectas puede ser principalmente citotóxico y expresado como esteatosis o necrosis, ó colestásico y caracterizado por estancamiento del flujo biliar (Herrerías,1996).

Las hepatotoxinas citotóxicas indirectas incluyen compuestos como aflatoxinas, ocratoxinas, cicasina, alcaloides de pirrolizidina, *Amanita phalloides*, ácido tánico, hipoglicina A, safrol, etionina, tetraciclina, entre otras. Las hepatotoxinas indirectas colestásicas producen ictericia o fallo en la función hepática por interferencia con mecanismos de excreción de sustancias en los canalículos biliares o por inhibición de la entrada hepatocelular desde la sangre de sustancias destinadas a la excreción biliar. Algunas hepatotoxinas citotóxicas indirectas producen carcinoma hepático, por lesión celular debida a cambios selectivos en el control de macromoléculas, generalmente alquilación o arilación del DNA (Herrerías,1996).

La siguiente tabla enlistan los fármacos y las sustancias comunes causantes de los cambios morfológicamente distinguibles en el hígado.

Tabla 2. Principales alteraciones de la morfología hepática producida por algunos fármacos.

Cambio morfológico principal	Tipo de agente	Ejemplo
Colestasis	Esteroide anabólico Antitiroideo Antibiótico Anticonceptivo oral Hipoglucemiante oral Tranquilizante Oncoterapéutico Inmunosupresores Anticonvulsionante Bloqueador de canal de calcio	Metiltestosterona Metimazol Esteolato de eritromicina Nitrofurantoína Noretinodrel con mestranol Cloropropamida Cloropromacina Esteroides anabólicos Busulfano Tamoxifeno Ciclosporina Carbamacepina Nifedipina Verapamilo
Hígado graso	Antibiótico Anticonvulsionante Antiarrítmico Oncoterapéutico	Tetraciclina Valproato sódico Amiodarona Asparaginasa Metotrexato

continuación

Hepatitis	Anestésico Anticonvulsinante Antihipertensor Antibióticos Diurético Laxante Antidepresor Antiinflamatorio Antifúngico Antiviral Bloqueadores de los canales de calcio	Halotano Fenitoína Carbamacepina Metildopa Captoprilo Enalaprilo Isoniacida Rifampicina Nitrofurantoína Clorotiacida Oxifenisatina Amitriptilina Impramina Ibuprofeno Ketoconazol Fluconazol Zidovudina Dideoxinosina Nifedipino Verapamilo Diltiazem
Mixto hepatitis y colestasis	Imunosupresores Hipolipemiente	Azatioprina Ácido nicotínico Lovastatina
Necrosis	Hidrocarburo Metal Hongo Analgésico Solvente	Tetracloruro de carbono Fósforo amarillo <i>Amanita phalloides</i> Acetaminofeno Dimetilformamida
Granulomas	Antiinflamatorio Antibiótico Inhibidor de la xantina oxidasa Antiarrítmico Anticonvulsinante	Fenilbutazona Sulfonamidas Alopurinol Quinidina Carbamacepina

(Mc Phee, 2001).

2 HEPATITIS VIRAL

La infección aguda se debe con mayor frecuencia, a la infección con uno ó varios tipos de virus. Si bien estos agentes pueden identificarse con base a las propiedades antigénicas mediante pruebas de laboratorio, todos producen padecimientos clínicamente similares. Éstos virus son: virus de la hepatitis A (VHA), virus de la hepatitis B (VHB), virus de la hepatitis C (VHC), virus de la hepatitis D (VHD), virus de la hepatitis E (VHE) y recientemente el virus de la hepatitis G. Otros agentes virales capaces de producir hepatitis aguda, aunque en menor frecuencia, incluyen el virus de Epstein-Barr, causante de la mononucleosis infecciosa, el citomegalovirus (CMV), el virus de herpes simple (VHS), el virus de la rubéola y el virus de la fiebre amarilla (Tierney, 2003).

En la hepatitis aguda la intensidad de padecimientos varía desde la asintomática y clínicamente no manifiesta, hasta la fulminante y mortal. Algunos pacientes, tienen una gran variedad de signos y síntomas, entre los cuales incluyen anorexia, fatiga, pérdida de peso, náuseas y vómito, dolor en el cuadrante superior derecho del abdomen, ictericia, fiebre, esplenomegalia y ascitis.

En la figura 4 se observan los síndromes clínicos relacionados con hepatitis son: hepatitis aguda, la cual a veces se acompaña de colestasias intrahepáticas; hepatitis fulminante, se vincula con necrosis masiva y se acompaña de una alta tasa de mortalidad. La hepatitis viral crónica puede ser persistente o activa, la hepatitis crónica activa por lo general progresa a cirrosis hepática, mientras que la hepatitis crónica persistente no lo hace (Mc Phee, 2001).

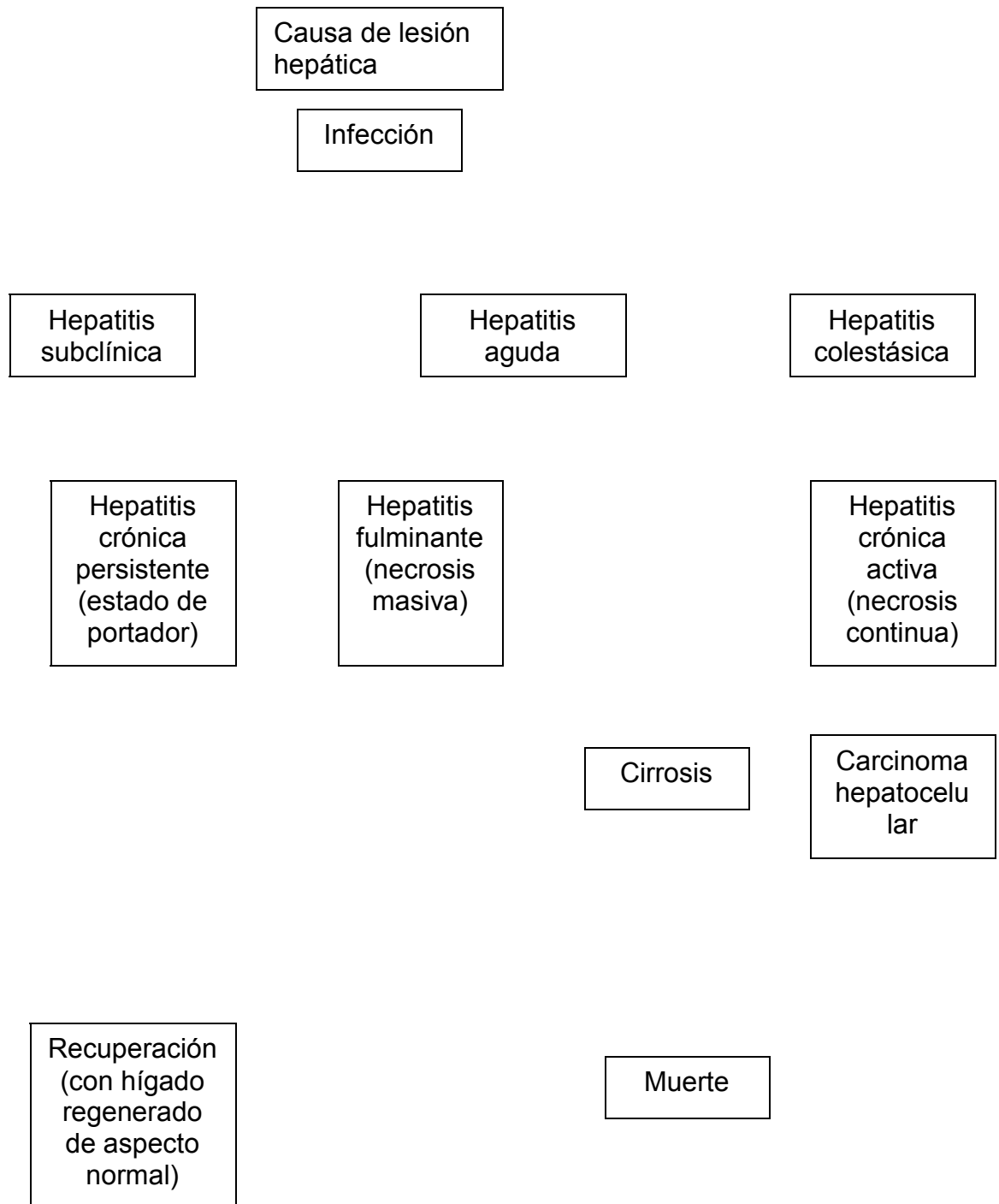


Figura 4. Síndromes clínicos relacionados con hepatitis (Mc Phee, 2001).

2.2.1 HEPATITIS A

La hepatitis A es una enfermedad benigna y autolimitada con un periodo de incubación de 2 a 6 semanas. El VHA no produce hepatitis crónica ni estado de portador y sólo en casos raros causa hepatitis fulminante. La tasa de mortalidad es baja, sólo del 1%. Se encuentra en todo el mundo y es endémico en los países con condiciones de higiene y salubridad precarias, donde la mayoría de la población nativa tiene anticuerpos anti-VHA detectables antes de cumplir los 10 años de edad. La enfermedad clínica tiende a ser leve o asintomática y es rara después de la infancia (Herrerías, 1996).

El VHA se propaga mediante la ingestión de agua o alimentos contaminados y se desprende con las heces durante 2 a 3 semanas antes y 1 semana después de la aparición de la ictericia. No se excreta en cantidades significativas por la saliva, la orina, ni el semen. Casi todos los casos se deben a contactos con personas infectadas durante el periodo de excreción fecal, por la vía fecal-oral. En los países en vías de desarrollo donde las personas viven en condiciones de hacinamiento y los servicios de higiene pública son deficientes, pueden aparecer epidemias por contaminación del agua; en los países desarrollados, las infecciones esporádicas pueden contraerse consumiendo moluscos crudos o hechos al vapor (ostras, mejillones, almejas), ya que concentran al virus a partir del agua marina contaminada por el alcantarillado. Como la viremia del VHA es transitoria, la transmisión hematológica es rara (Abdo, 2003).

El VHA es un picornavirus pequeño, sin envoltura y con RNA monocatenario, (ver figura 5). La lesión hepática puede deberse a una agresión de tipo inmunitario de los hepatocitos infectados. Cuando comienzan los síntomas, en la sangre aparecen anticuerpos específicos de tipo IgM, que constituyen un marcador de infección aguda. El paso del virus a las heces acaba cuando los títulos de IgM se elevan. La respuesta de IgM suele iniciar su declive después de algunos meses y va seguido de la aparición de una IgG anti-VHA que persiste durante toda la vida, proporcionando protección

inmunitaria frente a la reinfección por cualquier cepa del VHA (Robbins, 2004).

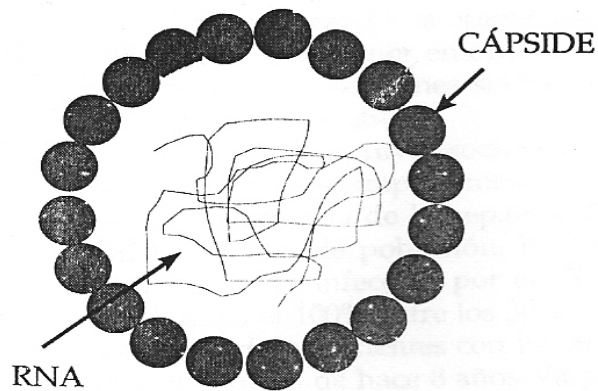


Figura 5. Estructura del virus de la Hepatitis A (Herrerías, 1996).

2.2.2 HEPATITIS B

El virus de la hepatitis B puede provocar: 1) una hepatitis aguda con recuperación y eliminación del virus, 2) una hepatitis crónica no progresiva, 3) una hepatitis crónica progresiva que acaba en cirrosis, 4) una hepatitis fulminante con necrosis hepática masiva y 5) un estado de portador asintomático, con o sin enfermedad subclínica progresiva. Además, el VHB interviene en forma importante en el desarrollo de carcinoma hepatocelular (Herrerías,1996).

Se calcula que la cifra de portadores de VHB en el mundo asciende a 350 millones. A diferencia del VHA, el VHB permanece en sangre durante los últimos estadios de un largo periodo de incubación (4 a 26 semanas) y durante los episodios activos de hepatitis aguda y crónica. Es un virus resistente y puede soportar grados extremos de temperatura y humedad. Los vehículos más importantes para la transmisión son la sangre y los líquidos orgánicos, semen, saliva, sudor, lágrimas y leche materna. En las regiones muy endémicas, el principal mecanismo de transmisión es la vertical, de

madre a hijo durante el parto. En las áreas poco endémicas, el mecanismo de infección es la transmisión horizontal, a través de transfusiones, hemoderivados, diálisis, pinchazos accidentales con agujas infectadas, consumo de drogas intravenosas y la vía sexual (homo y heterosexual). En la tercera parte de los pacientes no se logra identificar el foco de infección (Abdo,2003).

El VHB es un miembro de la familia *Hepadnaviridae*, un grupo de virus que contiene DNA y que provoca hepatitis en múltiples especies animales. En la figura 6 se observa que el genoma del VHB es una molécula de DNA circular, parcialmente bicatenario, con 3200 nucleótidos y que codifica a las siguientes proteínas: una proteína central de la nucleocápside (HBcAg, antígeno central de la hepatitis B) y un polipéptido más largo que se transcribe con una región prenuclear y otra nuclear a la que se le denomina HBeAg (antígeno “e” de la hepatitis B). El HBcAg queda retenido en el hepatocito infectado, mientras que el HBeAg se secreta a la sangre proporcionando inmunidad.

Una envoltura glucoproteica (HBsAg, antígeno de superficie de la hepatitis B), que también posee capacidad inmunógena cuando se encuentra en la sangre, una DNA polimerasa y una proteína de la región X (proteína X del VHB), que actúa como un transactivador de la transcripción promiscuo para los genes del huésped y que puede desempeñar un papel en el desarrollo de carcinoma hepatocelular, una vez integrado en el genoma del huésped (Robbins,2004).

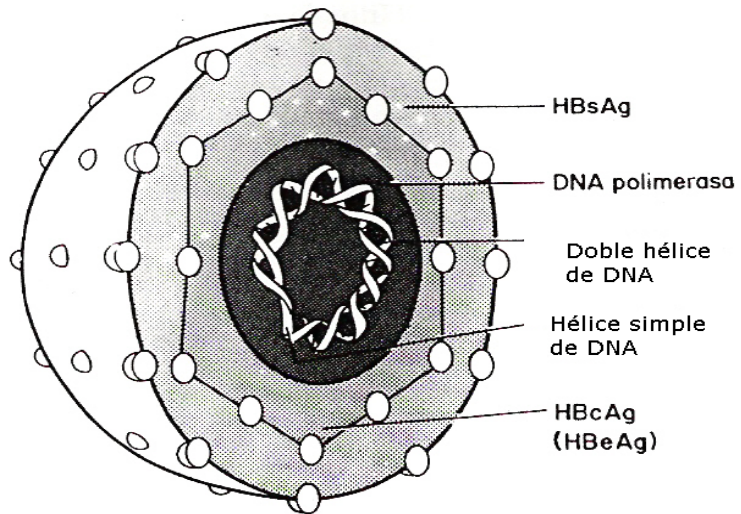


Figura 6. Estructura del virus de la hepatitis B (Herrerías, 1996).

2.2.3 HEPATITIS C

Se cree que en todo el mundo hay alrededor de 175 millones de portadores, una prevalencia del 3%. El número de infecciones anuales por VHC descendió desde 180,000 a mediados de los años ochenta a unos 28,000 a mediados de los noventa. Esto se debió a la notable reducción de las hepatitis C asociadas a transfusiones, como resultado de las técnicas de cribado y al descenso de las infecciones en los consumidores de drogas por vía intravenosa, motivadas por el miedo a adquirir el virus de inmunodeficiencia humana. Sin embargo la mortalidad por el VHC seguirá

elevándose, debido al prolongado intervalo que transcurre entre la infección aguda y la insuficiencia hepática.

Las vías de transmisión principales son las inoculaciones y las transfusiones sanguíneas. La transmisión a través de hemoderivados actualmente es rara y sólo representa alrededor del 4% de infecciones agudas por este virus. Las tasas de transmisión sexual y vertical son bajas y la hepatitis esporádica de origen desconocido representa el 40% de los casos. Este tipo de hepatitis es la de mayor velocidad de progresión a enfermedad crónica y a cirrosis final, calculándose que llegan al 20%. En consecuencia el VHC constituye la primera causa de hepatopatía crónica en el mundo occidental (Tierney,2003).

Se han descrito múltiples tipos y subtipos del virus, incluso en una misma persona. Esta variabilidad dificulta en gran medida los esfuerzos para desarrollar una vacuna, porque los elevados títulos de IgG anti-VHC producidos tras la infección no proporcionan inmunidad eficaz frente a una infección posterior por el virus, ya sea en forma de una reactivación de una cepa endógena o de una infección por una cepa distinta.

El periodo de incubación oscila entre 2 y 26 semanas, con una media de 6 a 12 semanas. El VHC contiene RNA y puede detectarse en sangre durante 1 a 3 semanas, coincidiendo con el ascenso de transaminasas séricas. La evolución clínica de la hepatitis aguda por el virus C tiende a ser más leve que la del VHB y es asintomática en el 75% de los infectados. Aunque los anticuerpos neutralizantes del VHC aparecen tras un intervalo de semanas a pocos meses, el RNA del virus persiste en circulación de un elevado número de pacientes. Por tanto una característica clínica típica de la infección por el VHC es el ascenso episódico de las transaminasas séricas, incluso en ausencia de síntomas clínicos, lo que probablemente se debe a brotes repetidos de necrosis hepatocelular. El 20% de los pacientes con infección persistente evolucionan a cirrosis, que puede existir en el momento del diagnóstico ó desarrollarse en un periodo de 5 a 20 años. También es posible que los pacientes mantengan una infección crónica por el VHC documentada durante decenios, sin progresión a la cirrosis. La hepatitis fulminante es rara. En la figura 7 se puede

observar un modelo de representación de los flavivirus, familia a la que pertenece el virus de la hepatitis C, indicando sus proteínas estructurales (Robbins,2004).

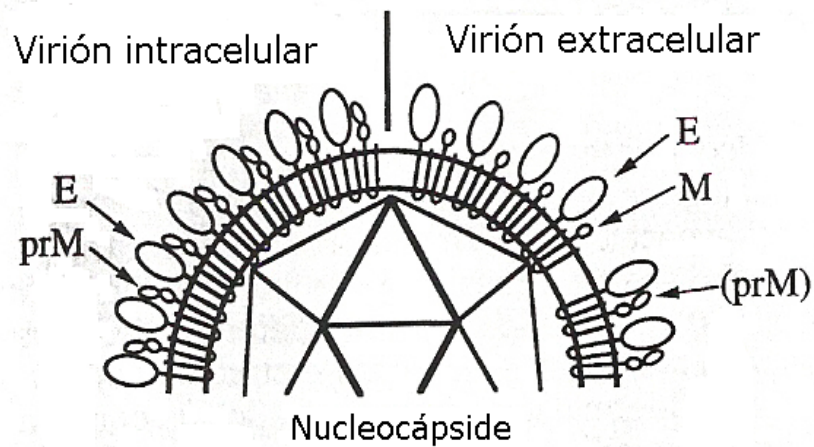


Figura 7. Estructura representativa de los *flavivirus* (Chambers,1990).

2.2.4 HEPATITIS D

Denominado también virus delta de la hepatitis, el VHD es un virus de RNA con una multiplicación defectuosa, de modo que sólo provoca infección cuando está encapsulado por el HBsAg. Por tanto, el VHD depende totalmente de la coinfección por el VHB para su multiplicación. La hepatitis delta aparece sólo en dos circunstancias: 1) coinfección aguda tras la exposición a un suero que contenga tanto a VHD como VHB y 2) sobreinfección de un portador crónico del VHB que recibe un nuevo inóculo de VHD. Casi todos los pacientes con coinfección pueden eliminar el virus y restablecerse por completo. En los pacientes con sobreinfección, ocurre una aceleración de la hepatitis, en especial hacia una hepatitis crónica más grave, que se manifiesta de 4 a 7 semanas más tarde (Mc Phee,2001).

La infección por el VHD se encuentra en todo el mundo, con tasas de prevalencia que oscilan entre el 8% de los portadores de HBsAg del sur de Italia y el 40% en África y en Oriente Medio. El VHD es una partícula con doble envoltura que, en el estudio con microscopía electrónica se parece al VHB. La capa antigénica externa de HBsAg rodea a un antígeno delta interno (Ag del VHD); asociada a éste se encuentra una molécula circular pequeña de un RNA monocatenario. El RNA y el Ag del VHD pueden detectarse en la sangre y el hígado inmediatamente antes de que surjan las primeras manifestaciones de la enfermedad sintomática aguda y durante los primeros días de ésta.

El indicador más confiable de exposición reciente es la IgM anti-VHD, aunque su aparición es transitoria. Cuando la hepatitis delta crónica se debe a una sobreinfección por el VHD, se detecta HBsAg en el suero y los anticuerpos anti-VHD (IgM e IgG) persisten durante meses ó incluso años (Robbins,2004).

2.2.5 HEPATITIS E

El VHE se transmite por vía intestinal, transportado por el agua y produce una infección fundamentalmente después de la lactancia. Es endémico en India, donde las tasas de prevalencia de anticuerpos IgG anti-VHE se acercan al 40%. Se han descrito epidemias en Asia, África y México. Las infecciones esporádicas son raras y afectan sobre todo a viajeros; sin embargo, son más del 50% de los casos de hepatitis vírica aguda esporádica en India. En la mayoría de los afectados, la enfermedad es autolimitada y el VHE no se asocia a hepatopatía crónica ni a viremia persistente. Una característica típica de la infección por el VHE es la elevada mortalidad de las mujeres embarazadas infectadas que se aproxima al 20%. El periodo medio tras la exposición es de 6 semanas (Tierney,2003).

El VHE es un virus de RNA monocatenario y sin envoltura que se ha caracterizado como un calicivirus. Durante la infección activa es posible identificar un antígeno específico (Ag del VHE) en el citoplasma de los hepatocitos. El virus puede

detectarse con microscopía inmunoeléctronica en las heces y es posible determinar los anticuerpos anti-VHE y el RNA del virus en el suero (Gamboa,2000).

2.2.6 HEPATITIS G

Hace algunos años se produjeron un conjunto de epidemias designadas como hepatitis F, en las que no pudo identificarse ningún virus. El tren alfabético se desplazó hacia delante y en 1995 se clonó el virus de la hepatitis G, un flavivirus con características comunes al VHC. Se transmite por la sangre y hemoderivados contaminados y posiblemente, también por transmisión sexual. En hasta el 75% de las infecciones, el VHG acaba siendo eliminado del plasma, mientras que las restantes se hacen crónicas. Lo más probable es que la multiplicación del VHG tenga lugar en las células mononucleares, por tanto, el nombre que se da a este virus es incorrecto, puesto que no es hepatotropo y no origina elevaciones en las transaminasas séricas. Existen varios indicios de que el VHG no produce efectos anatomopatológicos y no parece ser necesario hacer un cribado de RNA del VHG en la sangre. Parece que la infección por el VHG ejerce efectos protectores en los pacientes con coinfección por el VIH. Algunos estudios indican que el VHG inhibe la multiplicación del VIH en cultivos de células mononucleares de la sangre periférica (Tierney,2003).

2.3 CARACTERÍSTICAS DE LA HEPATITIS C

2.3.1 Patogenia y respuesta inmune

Todavía no se conoce con certeza el mecanismo de producción de la lesión hepática en la infección por VHC, aunque podría ser consecuencia de un efecto citopático directo, como de mecanismos mediados por el sistema inmune.

El cuadro histológico hepático se caracteriza por una hepatitis crónica activa leve, acompañada por lesiones del conducto biliar, esteatosis, nódulos o folículos linfoides

intraportales y alteración eosinofílica del citoplasma del hepatocito, la infiltración linfática es más leve en la hepatitis C que en la hepatitis B (Méndez,2003).

Los mecanismos inmunes juegan un papel primordial en la hepatitis C. La infección por VHC estimula tanto la respuesta celular como la humoral. La respuesta inmunitaria celular basada en la cooperación de los linfocitos auxiliares CD4+ y los linfocitos T citotóxicos CD8+ es importante en la eliminación de la infección vírica, mientras que la respuesta inmunitaria humoral es generalmente más importante en la prevención de una infección secundaria (Méndez,2003).

Los linfocitos T citotóxicos reconocen los antígenos virales expresados en las células infectadas y producen la lisis de éstas células impidiendo la maduración de los viriones. Además, de producir citocinas que inhiben directamente la replicación viral. Los linfocitos CD4+ actúan regulando la respuesta inmunitaria celular a través de la subpoblación Th1 CD4+ que producen linfocinas que activan los linfocitos T citotóxicos e intervienen en la respuesta humoral a través de las células Th2 CD4+ (Feldman,2000).

Existen evidencias que la región HVR1 (región hipervariable viral 1) de E2 constituye uno de los elementos clave en la respuesta inmunitaria frente a la infección por VHC. Los pacientes con una respuesta inmunitaria normal presentan una heterogeneidad moderada de los aislados víricos en relación con la región HVR1. Sin embargo los aislados de los pacientes con agammaglobulinemia presentan una escasa heterogeneidad en esta región. Por el contrario, los aislados de pacientes tratados con interferón, y por tanto en los que se ha producido una estimulación del sistema inmune, presentan un grado de heterogeneidad en HVR1 más alto que los de los otros dos grupos. Además en la infección crónica por VHC, la diversidad genómica, especialmente en la región hipervariable HVR1, aumenta con el tiempo (Alonso,1998).

Esta región HVR1 interviene en los fenómenos de adherencia del virus ya que la presencia de anticuerpos específicos frente a esta región bloquea la unión del virus a la superficie de la célula diana. Esta variabilidad del genoma vírico con el tiempo, da lugar a una selección del sistema inmunológico de variantes que escapan a los

sistemas defensivos inmuno-dependientes. De ahí la gran heterogeneidad de HVR1 de los aislados víricos de los pacientes crónicos y de la ausencia de inmunidad protectora frente a la reinfección. Clínicamente los cambios de la región hipervariable pueden ser silentes o estar asociados con distintos episodios de hepatitis (Alonso,1998).

Los intentos de vacunación realizados en chimpancés con las proteínas recombinantes E1 y E2 expresadas en células eucariotas han fracasado. Los chimpancés vacunados con estas proteínas se reinfectaron cuando fueron inoculados con aislados del VHC del mismo genotipo y subtipos o con aislados muy próximos genéticamente a aquellos de donde procedían las secuencias genómicas de los antígenos vacunales. Diferentes estudios sugieren que la variabilidad de la región HVR1 es finita ya que la gammaglobulina obtenida a partir de lotes amplios de unidades de plasma VHC positivo presenta un efecto neutralizante del HCV (Liang,2000).

En cuanto a la respuesta inmunológica de tipo celular en la infección por VHC, se han detectado linfocitos T citotóxicos específicos para el VHC en el hígado de pacientes y chimpancés infectados que reconocen tanto a las proteínas de la cápside como a las de envoltura (Liang,2000).

Existen varios estudios realizados sobre pacientes con hipogammaglobulinemias que han recibido tratamiento con gammaglobulina infectada por VHC. En éstos la tasa de infección por VHC es similar a la de aquellos que se han infectado con VHC a través de transfusiones, aunque la evolución ha sido más grave en las personas con hipogammaglobulinemia que en inmunocompetentes normales. En pacientes con hipogammaglobulinemia, el 82% se volvieron RNA-VHC positivo en los 4 meses siguientes de la infección, aunque muy pocos (13%) desarrollaron anti-VHC, de éstos el 75% evolucionaron hacia la hepatitis crónica y el 25% hacia la cirrosis (Feldman,2000).

Los pacientes que presentan una inmunodeficiencia celular grave, como es el caso de los infectados con virus de inmunodeficiencia humana (VIH), la sobreinfección o

coinfección de VHC produce una mortalidad por afectación hepática más alta que la que tiene lugar entre los enfermos con inmunodeficiencia humoral. El fallo hepático en los pacientes con coinfección VIH/VHC (virus de inmunodeficiencia humana y hepatitis C) tiene lugar en menos tiempo (entre 3 y 10 años) que entre los infectados con hipogammaglobulinemia (superior a los 20 años). Algunos estudios muestran que el deterioro hepático está directamente relacionado con el daño de la respuesta inmunitaria celular y está relacionado con una disminución de células CD4+. En los afectados con inmunodeficiencias de tipo celular, la hepatitis C progresa más rápidamente hacia la hepatitis crónica que en pacientes inmunocompetentes y con hipogammaglobulinemia (Ceredo,2000).

Se ha observado que el tratamiento con corticoides disminuye los niveles de transaminasas hepáticas, aunque aumentan la carga viral en suero, en algunos se exacerba la enfermedad hepática cuando cesa la inmunosupresión (Ceredo,2000).

Por otra parte, en pacientes infectados simultáneamente por VHC y el VIH o con inmunodeficiencias de tipo humoral la enfermedad hepática puede ser agresiva, lo cual indica que las inmunoglobulinas y los linfocitos T CD4+ no son los únicos frenos que actúan en la progresión de la enfermedad y que existen otros factores que también intervienen en la defensa antivírica (Feldman,2000).

Aunque se monta una respuesta inmune específica en la infección por el VHC, ésta no es suficiente para suprimir la infección en muchos pacientes, y no produce protección frente a nuevas reinfecciones. En esta ausencia de protección interviene la variabilidad genómica, la cuál contribuye al fracaso de la respuesta y desarrolla una inmunidad protectora. De esta forma se explica la tendencia a la persistencia de la infección que ocurre en la mayoría de los pacientes infectados. La infección se acompaña sólo de una discreta alteración de la función del hígado, en contraste con la infección primaria, sugiriendo que la inmunidad tienen algún papel protector (Feldman,2000).

2.3.2 Cuadros clínicos

El espectro de la enfermedad hepática en pacientes con infección por VHC abarca

una amplia gama, desde individuos asintomáticos con pruebas normales de función hepática, pasando por la hepatitis aguda y la crónica hasta el carcinoma hepatocelular y el fallo hepático que requieren trasplante de hígado (Alonso,1998).

2.3.2.1 Hepatitis C aguda

La hepatitis C aguda se presenta en la mayoría de los casos como una infección subclínica. Sólo un 20-30% de los pacientes tienen síntomas y de ellos sólo la mitad manifiesta ictericia. El periodo de incubación medio que precede a la aparición de los síntomas es de 7 semanas. Transcurrido este periodo de tiempo, comienzan a aumentar las ALT (alanin amino transferasas) y aparecen los síntomas. Estos son indistinguibles de otras hepatitis virales, pudiéndose encontrar, además de la ictericia, manifestaciones gastrointestinales inespecíficas (anorexia, náuseas, dolor abdominal y fatiga). Cuando aparece la ictericia, ésta puede durar de 2 a 12 semanas y su gravedad es variable (Alonso,1998).

Prácticamente todos los pacientes tienen elevación de ALT y el pico aumenta hasta 10 veces en el 80% de los pacientes. Se han descrito distintos patrones de alteración de los niveles de ALT como niveles fluctuantes con periodos de anormalidad intercalados con otros normales y persisten alterados en forma de meseta, elevaciones rápidas en forma de un pico para luego descender rápidamente hasta valores normales, pero su significado es desconocido.

Cuando se utilizan técnicas de inmunoensayo enzimático de segunda generación, el intervalo medio entre el aumento de los niveles de ALT y la seroconversión es de dos semanas. Los marcadores víricos de la infección (RNA vírico) son detectables dentro de las primeras dos semanas después de la exposición y los niveles víricos aumentan en las semanas siguientes de 10^6 a 10^8 genomas/ml. En los casos de infección aguda y enfermedad autolimitada, el RNA se vuelve indetectable a las pocas semanas y los síntomas y la ALT se normalizan (Ceredo,2000).

La hepatitis fulminante y el fallo hepático subagudo son excepcionales en la infección

primaria aguda por VHC. En la infección aguda en los transplantados de hígado puede asociarse con fallo hepático subagudo. También la infección con VHC en pacientes con cirrosis puede precipitar el fallo hepático (Ceredo,2000).

2.3.2.2 Hepatitis C crónica

El porcentaje de progresión a la cronificación establecido inicialmente en un 50% parece ahora una subestimación. En la mayoría de los casos (hasta 85%) los síntomas desaparecen pero los niveles de ALT permanecen elevados y el RNA persiste. Los pacientes con hepatitis C crónica tienen escasa sintomatología, en el caso que presenten alguno, el síntoma más frecuente es la fatiga, que es descrita como malestar, letargia, falta de resistencia o falta de energía. Otros síntomas menos frecuentes son náuseas, anorexia, dolor hepático, pérdida de peso, debilidad, dolor muscular, artralgias, los cuales aumentan su frecuencia en el caso de enfermedad grave o avanzada. Toda esta sintomatología raramente es incapacitante, pero ocasiona una disminución en la calidad de vida. La mayoría de los pacientes tienen elevadas las ALT, si bien estas fluctúan entre 1.5 y 10 veces el límite superior normal. También es frecuente que las ALT sean normales, otros sólo esporádicamente muestran niveles elevados de ALT (Sherlock,1990).

Se ha comunicado la persistencia de la viremia a pesar de la recuperación bioquímica o de la desaparición de los anticuerpos anti-VHC. Estos hechos son los que han hecho pensar de forma equivocada que existían portadores sanos de VHC. Sin embargo, las biopsias hepáticas de pacientes infectados que tienen las ALT normales han mostrado evidencias histológicas de hepatitis crónica, aunque el daño hepático es generalmente leve. La fibrosis grave y la cirrosis son muy graves entre los pacientes con hepatitis crónica que tengan las ALT normales. La mayoría de los pacientes presentan una hepatitis crónica persistente o una hepatitis de cambios mínimos, y solamente en un 13% la histología muestra un patrón normal (Sherlock.1990).

La evolución de la infección persistente no es uniforme, algunos pacientes presentan evidencia de enfermedad activa con lesión hepática, mientras que otros normalizan

sus niveles de ALT y tienen cambios histológicos leves y no progresivos con un bajo nivel de replicación viral. Un 10% de los pacientes con hepatitis crónica muestran una mejoría clínica e histológica. En un 50% de los casos la enfermedad parece relativamente benigna y no progresiva, mientras que el resto de la enfermedad progresa insidiosamente con el tiempo (Gamboa,2000).

Varios factores influyen de forma decisiva en la evolución clínica de la hepatitis C crónica, la cuál puede variar entre el desencadenamiento de un fallo hepático fulminante, cirrosis y carcinoma hepatocelular, o por el contrario, progresar de forma lenta e insidiosa con síntomas mínimos. Se ha observado que en pacientes no inmunizados frente al VHA el 41.1% de los pacientes con hepatitis C crónica sobreinfectados con el VHA han sufrido una hepatitis fulminante.

La progresión desde hepatitis crónica persistente (HCP) a hepatitis activa crónica (HAC) y desde ésta a cirrosis está bien documentada. Entre el 20 y el 25% de los casos de pacientes con hepatitis crónica seguidos a lo largo de 5-10 años desarrollan cirrosis. Los tres factores más relacionados con la progresión a cirrosis son el grado de daño hepático en la biopsia inicial, la edad, la exposición y la duración de la infección. Se encuentra una relación clara entre la lesión histológica inicial, la edad de la exposición y la probabilidad de progresión a cirrosis. Tras una media de 8 años de seguimiento progresan a cirrosis el 7% de los pacientes con HCP, el 33% de los que tenían hepatitis crónica activa moderada y el 47% de aquellos con hepatitis crónica activa severa (Arroyo,2001).

Otros factores que parecen influir en la progresión de la hepatitis C crónica son la infección concomitante con el VHB, la ingesta excesiva de alcohol, el estado inmune del hospedero y el mecanismo de transmisión. Algunos hallazgos sugieren que el VHC puede suprimir la replicación de VHB, aunque hay evidencias que la coinfección por ambos virus se correlaciona con un mayor daño hepático (Arroyo,1999).

La naturaleza cuasispecie del VHC y la variabilidad genómica de la región E2 del

virus, y por tanto la variabilidad antigénica de la envoltura, permiten al VHC evadir el reconocimiento por el sistema inmune y en concreto, permiten al virus escapar de la neutralización por los anticuerpos. Por otra parte parece que la inmunidad celular juega un papel muy importante en el 15% de las hepatitis C agudas que se resuelven. La coinfección con el VIH parece acompañarse de un daño hepático más severo y de una progresión más rápida a la cirrosis. Además la hepatitis C es más severa en receptores de órganos de pacientes infectados por el VHC, especialmente si han sido tratados con suero anti-linfocítico (Arroyo,1999).

Los pacientes con infección por VHC y alcoholismo tienen hepatitis más graves que los pacientes con enfermedad alcohólica exclusivamente. La progresión a la cirrosis es más frecuente en pacientes infectados con VHC que ingieren cantidades excesivas de alcohol (34.9%) que aquellos que no ingieren alcohol (18.2%). Más aún, el carcinoma hepatocelular es común en los pacientes alcohólicos con cirrosis e infectados por el VHC. La cirrosis hepática aparece con mayor frecuencia en pacientes receptores de sangre (23.4%) que en adictos a drogas por vía parenteral (7%) (Feldman,2000).

Aunque la progresión de la infección por el VHC hacia la enfermedad crónica es alta, el curso clínico de la enfermedad suele ser muy largo y clínicamente indolente, incluso cuando la cirrosis ya está establecida. Alrededor del 50% de los pacientes están completamente asintomáticos, y su enfermedad sale a la luz en un examen médico de rutina. Una vez que se desarrolla la cirrosis pueden aparecer los síntomas de fracaso hepático final. Son frecuentes, la fatiga, debilidad muscular, retención de líquidos, hemorragia intestinal superior, ictericia, orinas oscuras y prurito. Sin embargo, existen pacientes que permanecen asintomáticos hasta la aparición de los síntomas finales de la cirrosis o sus complicaciones, tales como hemorragias por várices esofágicas o ascitis, o bien hasta la aparición de un carcinoma hepatocelular (Gamboa,2000).

2.3.3 Infección por VHC y carcinoma hepatocelular

Estudios epidemiológicos han mostrado una relación entre la hepatitis C crónica y el carcinoma hepatocelular, llegando a estar en algunos países como Japón asociado a carcinoma hepatocelular con más frecuencia que el VHB.

En un estudio se encontró que el VHC podría haber contribuido al desarrollo del carcinoma en 37% de los pacientes, mientras que sólo el 9% tenían infección por el VHB. En otro estudio sobre 91 pacientes con hepatoma, todos ellos negativos para el HBsAg, encontraron anticuerpos anti-VHC (anti-HVC) o RNA- VHC mediante PCR en 53 de ellos (58%). Generalmente el carcinoma tiene lugar en pacientes que ya han manifestado cirrosis. Sólo ocasionalmente el carcinoma se ha manifestado en pacientes con hepatitis crónica con signos de cirrosis. Además la aparición de carcinoma es un evento tardío en el curso de la evolución de la infección por VHC, necesiándose una media de 30 años desde el inicio de la enfermedad (Méndez,2003).

La estrecha asociación entre el VHC y el carcinoma hepatocelular indica que el virus origina el cáncer de hígado por otros mecanismos. El mecanismo molecular por el que el VHC induce la aparición del carcinoma hepatocelular probablemente difiere mucho del involucrado en el cáncer provocado por el VHB (Méndez,2003).

Estudios recientes han observado que la proteína de la cápside del VHC presenta cierto potencial carcinogénico "*in vitro*", pudiendo transformar fibroblastos embrionarios de rata en células malignas. Por otra parte, se ha sugerido que los pacientes con genotipo 1b presentan un riesgo superior de padecer carcinoma hepatocelular que los pacientes con otros genotipos. La mayor parte de los estudios apuntan al VHC como factor de riesgo indirecto de inducción de carcinoma hepatocelular como resultado de la progresión de la hepatitis C crónica a la cirrosis. Como es ampliamente conocido la cirrosis constituye un factor de riesgo del carcinoma hepatocelular como parece mostrar el hecho de que entre un 10 y un 15%

de los pacientes con cirrosis presentan carcinoma hepatocelular (Sherlock, 1990).

Otros factores involucrados en el desarrollo de HCC es asociación del VHC con la sobreinfección con VHB, de forma que la coinfección VHB-VHC presenta un riesgo relativo de 82.5% de desarrollar HCC. Otros factores como el alcoholismo parecen intervenir en el desencadenamiento de HCC probablemente al acelerar los procesos de cirrosis (Alonso,1998).

2.3.4 Cirrosis hepática

La cirrosis es el resultado final de la lesión hepatocelular que conduce tanto a fibrosis como a regeneración nodular del hígado (Tierney,2003). Los factores importantes que contribuyen en su aparición son: hepatitis crónica, la enfermedad biliar y la sobrecarga de hierro. La lesión parenquimatosa y la fibrosis consiguiente son difusas y afectan todo el hígado; las lesiones focales con cicatrización no constituyen cirrosis. Además, la fibrosis puede ser irreversible una vez establecida, aunque en algunos casos raros puede observarse regresión (Robbins, 2004).

La clasificación histológica más común divide a la cirrosis en las formas micronodular, macronodular y mixta. La cirrosis macronodular se caracteriza por nódulos grandes, que pueden medir varios centímetros de diámetro y contener venas centrales. Esta forma corresponde a la cirrosis posnecrótica (poshepática), pero no es consecutiva a los episodios de necrosis masiva y colapso del estroma(Tierney, 2003).

En el mundo occidental la frecuencia aproximada de las categorías etiológicas de la cirrosis es la siguiente:

- Hepatopatía alcohólica, 60-70%
- Hepatitis vírica, 10%
- Enfermedades bilares, 5-10%
- Hemocromatosis primaria, 5%
- Enfermedad de Wilson, rara
- Deficiencia de α -antitripsina, rara

- Cirrosis criptógena, 10-15% (Robbins,2004).

Existen otros tipos infrecuentes de cirrosis, como 1) la cirrosis que aparece en lactantes y en niños con galactosemia y tirosinosis, 2) la cirrosis secundaria a fármacos y 3) la sífilis. Las cardiopatías pueden dar lugar a una esclerosis intensa (denominada cirrosis cardiaca). Una vez excluidas todas las causas conocidas de cirrosis, quedan aún un número considerable de casos sin clasificar que reciben el nombre de cirrosis criptógena.

Los tres mecanismos anatomopatológicos principales que se combinan para producir una cirrosis son la muerte hepatocelular, la regeneración y la fibrosis progresiva (Robbins,2004).

2.3.5 Manifestaciones extrahepáticas de la infección por VHC

La infección crónica por VHC puede ser un factor en la patogénesis de diferentes trastornos con manifestaciones extrahepáticas. Entre estas se encuentran la artritis, queratoconjuntivitis, liquen plano, glomerulonefritis y crioglobulinemia mixta esencial. Ésta última está fuertemente asociada con la infección por el VHC y se caracteriza por la existencia de dolor muscular, artritis, fatiga, rash cutáneo, glomerulonefritis y neuropatía en diferentes asociaciones. También se ha asociado con la infección por VHC a la glomerulonefritis membranosa y membranoproliferativa, la porfiria cutánea tardía, así como, sialoadenitis linfocítica similar a la del síndrome de Sjögren. Muy raramente se ha asociado con patologías hematológicas tales como trastornos linfoproliferativos o anemia aplástica (Alonso, 1998).

2.4 EL VIRUS DE LA HEPATITIS C

2.4.1 Taxonomía

La identificación y caracterización de los virus de la hepatitis B (VHB) y de la hepatitis

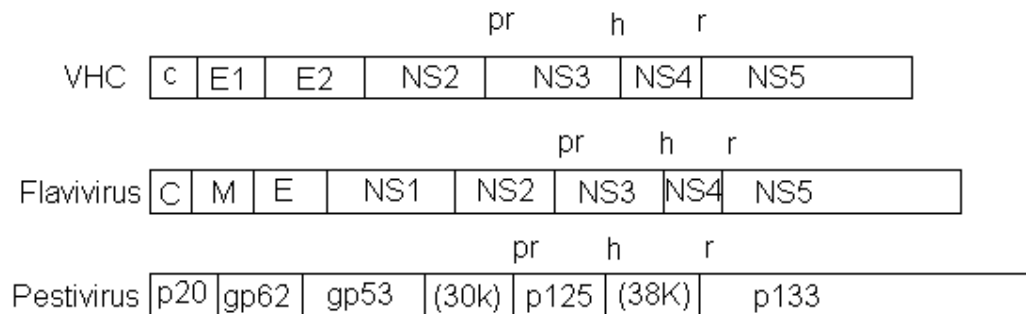
A (VHA) fue entre los años 60 y 70, con el consiguiente desarrollo de técnicas para el diagnóstico, se puso de manifiesto la existencia de casos de hepatitis con periodos de incubación y modos de transmisión característicos de una enfermedad infecciosa pero sin evidencia serológica de infección por los virus hepatotrópicos humanos conocidos. Prince y colaboradores (1992), comunicaron por primera vez en 1974 el desarrollo de hepatitis postransfusional en pacientes sometidos a cirugía cardiovascular sin infección por el VHB y proponen la existencia de uno o varios virus de la hepatitis tipo C. Un editorial aparecido en "The Lancet" en 1975 acuñó el término hepatitis no A-no B para una patología cuyo diagnóstico debía ser hecho por exclusión (Alonso,1998).

Se considera al virus de la hepatitis C como un género independiente dentro de la familia *Flaviviridae*, la cuál incluye además a los géneros *Flavivirus* y *Pestivirus*. El análisis de la secuencia de nucleótidos del RNA vírico y de los aminoácidos de los péptidos del VHC muestra un elevado grado de homología y organización genómica entre el VHC y los miembros de la familia *Flaviviridae*, como se observa en la figura 8.

Desde el extremo 5' a 3' del genoma, se encuentran sucesivamente regiones que codifican la nucleocápside, proteínas de envoltura glicosiladas y proteínas no estructurales implicadas en los procesos de replicación del VHC. El genoma del VHC contiene un único marco de lectura abierto ("open reading frame" ORF), que codifica una gran poliproteína de unos 3000 aminoácidos. La poliproteína es un péptido en el que se procesan por lo menos 10 proteínas, cuatro estructurales la nucleocápside viral o proteína "core", las proteínas E1 y E2 de la cubierta, y una proteína, tal vez transmembranal denominada p7 ó NS2A y seis proteínas no estructurales que participan en la replicación del RNA viral. El procesamiento de la poliproteína viral se lleva a cabo mediante proteasas tanto celulares como virales (Alonso,1998).

La región 5' no codificadora (5'NC) muestra aproximadamente un 50% de homología con la correspondiente región de los *Pestivirus*. Hay tres regiones de la poliproteína del VHC que comparten homologías tanto con los *Flavivirus* y *Pestivirus* como con otros virus que infectan las plantas. Una región contiene muchos residuos en común con las helicasas codificados por los *Flavivirus*, los *Pestivirus* y los *Potyvirus* de las plantas, siendo mayor la similitud con los *Pestivirus*.

Una segunda región contiene secuencias cortas que están altamente conservadas en todas las RNA polimerasas- RNA dependientes codificadas por los virus de RNA. La tercera región contiene los aminoácidos conservados en las serín-proteasas codificadas por los *Flavivirus* y *Pestivirus*, indicando, por tanto, la existencia de una organización similar (Méndez,2003).



C: core; E: Envoltura; M: Matriz; NS: No estructural; p: proteína; gp: glicoproteína; (): proteína no identificada; pr: proteasa; h: helicasa; r: replicasa.

Figura 8. Estructura antigénica del VHC, comparada con los flavivirus y los pestivirus (Alonso,1998).

La poliproteína del VHC comparte muchas otras características con los *Flavivirus* y *Pestivirus*. Su tamaño es similar en todos ellos (entre 3000 y 4000 aminoácidos). Las proteínas estructurales, situadas en el extremo aminoterminal (N-terminal), comienzan con una proteína de la nucleocápside de carácter básico. Por otra parte el dominio de la replicasa se encuentra en el extremo carboxiterminal (C-terminal) en los tres géneros de la familia *Flaviviridae*. En cambio, la proteína de la nucleocápside está situada en el extremo C-terminal en los *Potyvirus* y *Carnovirus* de las plantas. La hidrofobicidad de las poliproteínas del VHC, *Flavivirus* y *Pestivirus* es muy similar,

indicando una similitud en la estructura de la proteína y en la organización genética a pesar de la ausencia de una homología estructural en las secuencias primarias (Méndez,2003).

En el VHC inmediatamente después del dominio de la nucleocápside, se encuentran muchos lugares de glicosilación potencial, lo cuál lo asemeja muy de cerca con los *Pestivirus*. El grado de identidad en las secuencias primarias, tanto a nivel de nucleótidos como de aminoácidos, es mayor entre el VHC y los *Pestivirus*, lo que sugiere una relación evolutiva más cercana que con los *Flavivirus*. Incluso la densidad de las partículas infecciosas del VHC parece más próxima a los *Pestivirus* que a los *Flavivirus* (Alonso,1998).

2.4.2 Morfología y estructura del VHC

Existen varias partículas de muy diversos tamaños (entre 30 y 65 nm de diámetro) que se asocian a la infección VHC. Las primeras microfotografías electrónicas de partículas asociadas al VHC mostraban unas esferas de 30 nm de diámetro, cuyo tamaño se asemeja al atribuido en el momento actual a la cápside del VHC. Abe y colaboradores(1989), observaron tanto en sueros humanos como de chimpancés infectados con VHC, partículas víricas cuyo tamaño varía entre 36 nm y 62 nm de diámetro. Kaito y colaboradores (1994), obtuvieron microfotografías de alta resolución que mostraban partículas esféricas de 55 a 65 nm de diámetro incluidas en el interior de vesículas citoplásmicas (Arroyo,1999).

Estudios en gradientes de densidad de sacarosa y otros estudios basados en ultracentrifugación, mostraron que las partículas asociadas con VHC tienen varias densidades. Los estudios de Bradley y colaboradores (1991) y de Miyamoto y colaboradores (1992), establecen la densidad del VHC, entre 1.08 y 1.11 g/ml, sin embargo se han encontrado fracciones de menor densidad (1.05g/ml) que probablemente corresponden a complejos del virus con la beta lipoproteína sérica, y otras fracciones de mayor densidad (1.17 g/ml) que parecen corresponder a inmunocomplejos de virus y anticuerpos. Además mediante el tratamiento con detergentes no iónicos, se han identificado partículas de 1.25 g/ ml que parecen corresponder a la nucleocápside viral. Esta variabilidad de tamaños se explica por el

hecho de que las partículas observadas incluyen las siguientes formas víricas y estructuras asociadas: partículas víricas completas, nucleocápsides, viriones unidos a proteínas séricas como lipoproteínas e inmunoglobulinas, partículas aberrantes, incompletas o parcialmente descompuestas, vesículas con VHC en su interior liberadas de células infectadas (Mendez,2003).

De los estudios realizados hasta el momento parece deducirse que el VHC tiene un tamaño de 50 nm. Presenta una envoltura derivada de las membranas de la célula hospedadora, en la que se insertan las glicoproteínas virales E1 y E2. Esta estructura explica la sensibilidad al cloroformo de las partículas infecciosas y los cambios en la densidad de flotación después del tratamiento con detergentes.

Además de los lípidos en la superficie de la envoltura del virus se encuentran moléculas de azúcares. Parece ser que las proteínas de la envoltura se glicosilan mediante la unión de manosa en el retículo endoplásmico de la célula hospedadora, con la posterior adición de carbohidratos complejos durante el tránsito a través del aparato de Golgi, esta cubierta rodea a la nucleocápside formado por subunidades proteicas C, la cuál contiene el genoma vírico (Alonso,1998).

2.4.3 Estructura genómica

El genoma del VHC está formado por una cadena de RNA monocatenario de polaridad positiva. Tiene un tamaño de unos 9500 nucleótidos y contiene un único marco abierto de lectura (ORF) que se extiende a través de la mayor parte de su longitud, indicando que el VHC codifica una gran poliproteína precursora de 3011 aminoácidos. Desde el extremo 5' a 3' del genoma se encuentran sucesivamente la región no codificante 5'NC, la región codificante de la poliproteína y la región no codificante 3'NC (Méndez,2003).

La mayor parte de la información disponible sobre estructura genómica y de las proteínas codificadas por el VHC proviene del uso de diversos sistemas de expresión de cDNA recombinante del VHC. En uno de los sistemas más usados, los cDNAs son clonados con un promotor de la RNA polimerasa del bacteriofago T7, y son

transfectados con virus vaccinia recombinante dentro de las células de mamíferos, las cuales expresarán los cDNA del VHC. La consecuencia es que el RNA del VHC es transcrito en el citoplasma de las células transfectadas y después traducido y procesado para dar lugar a las proteínas estructurales y no estructurales del VHC. Estas proteínas se han podido identificar usando antisueros monoespecíficos, llegándose a conocer las proteínas codificadas por la mayor parte del genoma del VHC, tabla 3 (Alonso,1998).

Tabla 3. Regiones genómicas, proteínas y porcentaje de variabilidad

Región genómica	Proteínas	% de similitud nucleotidos	%similitud aminoácidos	Función
5' no codificadora		90		Iniciación traducción Replicación
Nucleocápside C	Proteína de core	81	90	Encapsidación
Envuelta E1	Glicoproteína	56	49	Adherencia celular
Envuelta E2,E2-p7	Glicoproteína	56	49	Adherencia celular
No estructural NS2	Metaloproteinasa	57	56	Clivaje NS2-NS3
No estructural NS3	Serín-proteasa NTPasa RNA helicasa	70	80	Clivaje poliproteína Energía
No estructural NS4	Cofactor proteasa	65	50	Replicación

No estructural NS5	RNA polimerasa-DNA dependiente	72	71	Replicación
3'no codificadora			26	Empaquetado vírico

(Alonso, 1998).

El genoma del VHC contiene regiones no codificantes altamente conservadas en las regiones terminales 5' y 3' (5'NC y 3' NC), las cuales flanquean la región codificante del genoma vírico. Como se puede observar en la figura 9. La región 5' contiene 341 nucleótidos y se asemeja más a la región 5' NC de los *Pestivirus*. Está altamente conservada (>90%) entre los VHC aislados de muy diferentes regiones del mundo, lo cual sugiere que tiene una función importante en la replicación o en la expresión de los genes, en esta región se pueden encontrar dominios variables intercalados con otros conservados (Méndez,2003).

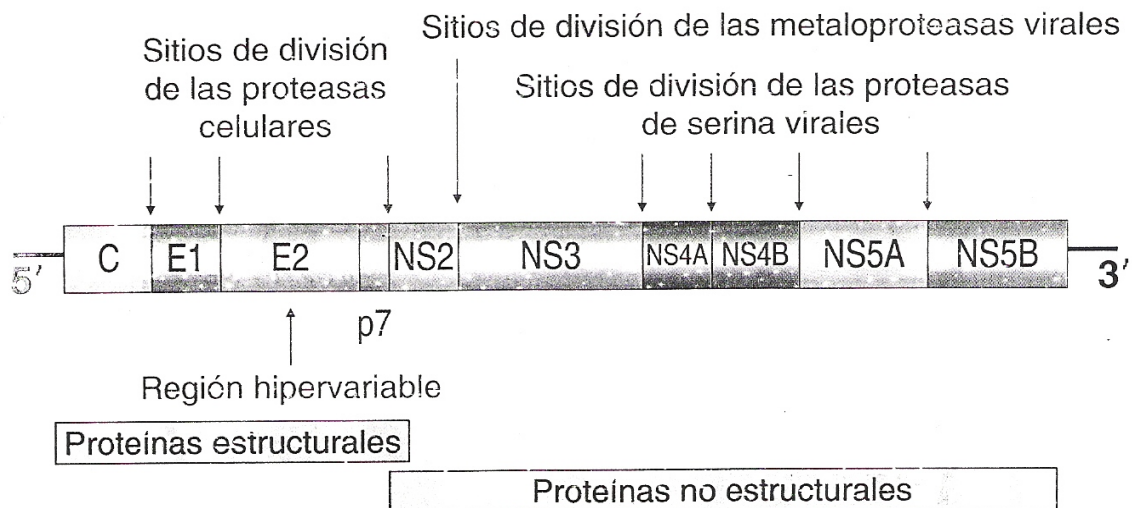


Figura 9. Organización del genoma del VHC (Méndez,2003).

En la figura 9, el conjunto de segmentos representan el marco de lectura abierto, en el

cuál las líneas verticales son el sitio donde las proteasas celulares y virales producen la división proteolítica. La estructura secundaria de la región 5' NC es compleja, los primeros 22-24 residuos de esta región forman una estructura con forma de horquilla, la cuál está conservada en todos los aislados del VHC y estable bajo condiciones fisiológicas (Méndez,2003).

Yoo y colaboradores (1992), sugieren que la traducción del RNA del VHC depende del extremo 5' terminal aunque esta estructura en forma de horquilla funcionaría como un potente inhibidor de la traducción. Este extremo 5' terminal contiene uno de los lugares de asiento de un ribosoma interno con capacidad para dirigir la traducción de la poliproteína viral. Se ha demostrado la presencia en la región 5' NC de cortos ORF con una posición relativa similar a la de los *Pestivirus*. Existen hasta 5 de estos ORF, los cuales se solapan en gran parte de su extensión. Estos ORF están conservados en todos los aislados, sugiriendo que tienen un posible papel en la traducción, quizá actuando como moduladores negativos (Arroyo,1999).

Se encuentran tres elementos de control en la región 5'NC: una estructura en forma de horquilla en el extremo 5', varios ORF y, finalmente, un elemento próximo al extremo 3' de la región 5' NC. Todos ellos, actuando en cis, ejercen distintas funciones sobre la traducción. Tomando la dirección 5'-3' se encuentra una secuencia de treinta nucleótidos seguidos de un codón de parada del ORF. Esta región muestra cierta variabilidad entre genotipos. A continuación se encuentra una secuencia poly-(U) de longitud variable, una secuencia poly-pirimidina C (U) y una secuencia de 98 bases altamente conservada que representa el extremo 3' terminal del genoma, como se puede observar en la figura 10. La estabilidad de la secuencia de esta región y de su estructura secundaria sugiere que esta parte del genoma interviene de forma importante en la replicación o estabilización del RNA-VHC (Alonso,1998).

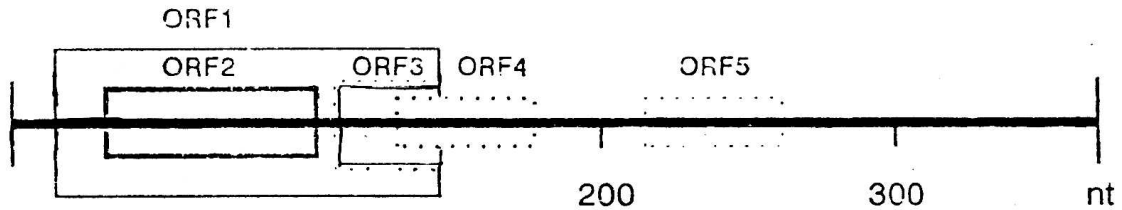


Figura 10. Diagrama de la posición relativa de los marcos abiertos de lectura (ORF) dentro de la región 5' NC del VHC según Joo y colaboradores, 1992.

2.4.4 Las proteínas del VHC

La traducción del RNA vírico origina una poliproteína precursora de 3011 aminoácidos. Los análisis estructurales de las regiones genómicas y la secuencia de aminoácidos ha permitido la identificación de las siguientes regiones: En el extremo 5' encontramos la región estructural del genoma, que codifica las proteínas del core y de la envoltura (E1 y E2). A continuación se encuentra la región que codifica las proteínas no estructurales (NS) en el siguiente orden: NS2, NS3, NS4a, NS4b, NS5a y NS5b. Además, en el extremo 3' del genoma se encuentra otra región no codificadora de entre 27 y 45 nucleótidos de longitud (Alonso,1998).

Las proteínas funcionales del VHC se forman por la segmentación de la poliproteína vírica gracias a la acción de las proteasas celulares y virales. Las peptidasas celulares catalizan la segmentación de la región estructural. Las proteínas de ésta región se caracterizan por presentar dominios hidrofóbicos en el C terminal, lo que permite su asociación con la membrana y posterior clivaje por acción de las peptidasas celulares. La ruptura de la unión entre NS2 y NS3 se produce por acción de la proteasa vírica codificada por NS2 y la parte N- terminal de NS3 (Méndez,2003).

Los primeros 191 aminoácidos del extremo N- terminal de la poliproteína precursora del VHC corresponden a la proteína de la nucleocápside. Tiene un tamaño de 22 kDa,

contiene muchos residuos de carga básica y es capaz de unirse al RNA viral, es inmunógena y presenta una secuencia de aminoácidos altamente conservados entre los diferentes aislados víricos, su extremo N-terminal presenta varios epítopes lineales timo-dependientes los cuales son ampliamente utilizados en los equipos diagnósticos comerciales para la detección de anticuerpos específicos en el suero de pacientes con hepatitis C (Méndez,2003).

A continuación de la proteína de la nucleocápside se encuentran las glicoproteínas E1 de 31 kDa y E2 de 70 kDa, las cuales forman parte de la envoltura. Estas proteínas están altamente glicosiladas a través de uniones con moléculas de asparagina, y aproximadamente la mitad de su masa es debida al carbohidrato manosa. Con la adición de anticuerpos específicos frente a una de las glicoproteínas coprecipitan ambas (la E1 y la E2). Estos complejos son reconocidos por sueros de gran número de pacientes infectados. También los sueros de pacientes infectados reaccionan frecuentemente con los antígenos E1 y E2 expresados en las células de mamíferos utilizando como vector el virus vaccinia. Esto indica que la glicosilación y/o formación de complejos es importante en la generación de epítopes antigénicos (Alonso,1998).

La hidrólisis de la poliproteína por efecto de las peptidasas celulares puede dar a este nivel dos formas de E1, E2 y E2-p7, las cuales se diferencian en su C-terminal. Ambas formas presentan una elevada hidrofobicidad en el C-terminal, característica importante para el anclaje de estas proteínas en la membrana celular.

En el extremo N-terminal de la proteína E2 se encuentra una zona de unos 30 aminoácidos de longitud que presenta una elevada variabilidad en los aminoácidos que las componen. Esta región hipervariable, conocida como HVR1 es presentada en la superficie del virión y es portadora de los epítopes neutralizantes (Alonso,1998).

Desde el punto de vista patogénico se ha observado que los anticuerpos específicos frente a esta región, cambian durante el curso de una infección crónica, sugiriendo que la variabilidad entre HVR1 y la mutación a este nivel constituye uno de los mecanismos que tiene el virus para escapar de la vigilancia del sistema inmunológico. La adherencia vírica es inhibida por el suero de pacientes que contengan anticuerpos

frente a la secuencia de HVR1 presente en el virus infectante (Arroyo,2001).

A continuación de la región HVR1 se encuentra otra región hipervariable, HVR2, de unos 7 aminoácidos que parece encontrarse sólo en los aislados del genotipo 1b. Las proteínas de la región no estructural parecen no estar glicosiladas. Las proteínas NS2 y NS3 tienen actividad proteasa y están implicadas en el proceso autoproteolítico de la región no estructural actuando a nivel NS2/NS3.

La región NS3 tiene actividad serín-proteasa, nucleótido- trifosfatasa (NTPasa) y RNA helicasa. La actividad serín-proteasa está bien caracterizada y juega un papel esencial en el procesamiento y ensamblaje del VHC. La actividad serín proteasa se encuentra localizada en la porción terminal de NS-3 (p70) y funciona de forma independiente en dos procesos. En primer lugar actúa en unión con NS-2 produciendo el clivaje NS2/NS3. En segundo lugar produce el clivaje entre las regiones NS3 y NS4 de la poliproteína en cis. El resto de los clivajes están también mediados por la serín proteasa y son efectuados en trans. Para algunos clivajes se requiere una secuencia de 33 aminoácidos próxima al extremo C-terminal de la proteína NS4a, la cuál puede activar a la serín proteasa en trans (Méndez,2003).

Las actividades NTPasa y RNA helicasa de NS1 reside en los 465 aminoácidos del extremo C terminal. La RNA helicasa parece implicada en el desdoblamiento de la cadena de ácido nucleico durante la replicación y transcripción vírica. La NTPasa hidroliza los nucleósidos trifosfatos proveyendo de energía el desenrollamiento de los ácidos nucleicos. La actividad DNA helicasa no tiene ninguna función con el ciclo vital del VHC pero podría afectar en alguna forma las funciones de la célula hospedadora. Parece que NS3 pudiera tener cierta relación con el desarrollo de cáncer hepático.

La región NS4 codifica a dos proteínas virales NS4A y NS4B. La primera actúa como cofactor de la actividad proteasa de NS3. Esta interacción NS3/NS4A es vital para la replicación vírica y actualmente es objeto de estudio para el desarrollo de antivirales que actúen inhibiendo el procesamiento de la poliproteína (Alonso,1998).

La región NS5 codifica dos proteínas NS5A y NS5B. La proteína NS5B es una RNA

polimerasa RNA dependiente. La función de NS5A es desconocida pero por acción con otros virus parece tener un importante papel en la replicación del RNA, algunos estudios sugieren que pueda intervenir en los fenómenos de sensibilidad del VHC a la interferón (Alonso,1998).

2.4.5 Diversidad genética del VHC y genotipos

Desde el descubrimiento del VHC ha aparecido una gran información referente a la diversidad genética. La primera evidencia de esta diversidad surgió de la comparación de un aislado japonés (VHC J1) y otro americano (VHC-1) la cuál reveló diferencias en las regiones NS3 y NS4. Posteriormente se demostraron diferencias en otras regiones: NS5 y envoltura, sugiriendo la existencia de múltiples tipos del VHC.

Durante la replicación de los virus de RNA pueden aparecer errores aleatorios originados durante la acción de la RNA polimerasa-RNA dependiente que afecta a la secuencia de nucleótidos. Estos errores pueden llevar a tres tipos de situaciones diferentes: 1) Que la variación genómica sea letal para el virus, 2) que tenga lugar el cambio de un nucleótido pero que persista la secuencia de aminoácidos, o 3) que configure una forma vírica viable con cambios en la secuencia de aminoácidos. Estos cambios en la secuencia de aminoácidos pueden carecer de efecto sobre la virulencia del virus, o por el contrario pueden permitirle una replicación más eficiente, evadir la respuesta inmunitaria del hospedador más fácilmente o adquirir resistencia frente a los víricos (Arroyo,2001).

En el caso del VHC, las variaciones en las secuencias genómicas dan lugar a la coexistencia dentro de un mismo hospedador de varios virus estrechamente relacionados pero distintos entre sí. Este tipo de población viral denominado cuasispecies tiene lugar en el VHC debido fundamentalmente, pero no exclusivamente, a la variabilidad dentro de la región HVR1 de E2. Existen otras variaciones mayores que afectan a una gran parte del genoma vírico y que se perpetúan filogenéticamente y de forma diferenciada entre los diferentes aislados y que se conocen como genotipos. Los genotipos son variaciones genéticas diferentes a

la de las cuasispecies (Alonso, 1998).

Varias cepas de virus, pueden ser clasificados de acuerdo a diferentes genotipos, incluyendo tipos y subtipos. En base al análisis de tipo genético, tipos de HCV, subtipos y virus aislados pueden ser distinguidos en base tan cercanamente como 10, 20 y 30% por secuencias divergentes. Seis principales tipos de HCV (1-6) han sido reconocidos, cada uno de los cuales divididos en más de 80 subtipos, por los números 1 y los subíndices a (1a,1b,1c, etc). El genotipo es una característica intrínseca de transmisión de las cepas de HCV, y no cambia durante el curso de la infección. Sin embargo no es conocido cómo diferentes genotipos (o las diferentes cepas de un mismo genotipo) puedan recombinarse en un solo hospedero (Liang,2000).

Algunos genotipos virales inicialmente restringidos geográficamente a poblaciones humanas aisladas han sido dispersadas en poblaciones mezcladas, y han surgido nuevas rutas eficientes de infección. Por ejemplo, la transfusión sanguínea, parece ser la responsable de la dispersión mundial del genotipo 1b de HCV, mientras que el uso de drogas intravenosas está claramente asociado con la transmisión del genotipo 3a en la mayoría de los aislados de los países industrializados. El genotipo de HCV influenció los primeros ensayos serológicos y moleculares. El genotipo de HCV también está fuertemente asociado con la sensibilidad a la terapia con interferón (IFN-alfa) y con la combinación de interferón con ribarvirina (Liang, 2000).

El grado de diversidad dentro de cada genotipo y subtipo es muy variable según la región del genoma o de la poliproteína considerada. La región 5' NC contiene el mayor grado de conservación en las secuencias (>90% de similitud). La región del core está relativamente bien conservada, con un rango de similitud en la secuencia de nucleótidos que varía entre el 81 y el 88% en los diferentes genotipos. Las regiones E1 y NS5 están menos conservadas, mostrando los aislados de diferentes genotipos una similitud en el rango de 53 y el 69% en la región E1 y de el 56 y el 72% en la región NS5. Dentro de un mismo genotipo el grado de similitud en la secuencia de nucleótidos entre subtipos es mayor, variando del 88 al 93% (core), del 68 al 79% (E1) y del 75 al 86% (región NS5). Para aislados de un mismo subtipo el grado de similitud varía dentro de 88 y 99% para las regiones de la cápside, E1 y NS5 (Méndez,2003).

La región hipervariable HVR1 de E2 presenta una variabilidad que puede superar el 50% entre los diferentes aislados. Además, la tasa de mutación en esta región es muy elevada. El nivel de divergencia entre la secuencia de nucleótidos del VHC oscila entre el 0.1 y el 0.2% por año. Teniendo en cuenta que la diferencia entre genotipos es de un 30-35% y entre subtipos de un 20%, se ha podido estimar que los genotipos se originaron hace 80-100 años y los subtipos hace 60-65 años.

La utilidad del estudio de la diversidad genética del VHC incluye aspectos epidemiológicos, clínicos y de diagnóstico, e incluso de prevención (implicaciones en el desarrollo de vacunas). Han sido particularmente estudiadas las diferencias geográficas en la prevalencia de los distintos genotipos. Aunque se han encontrado genotipos ampliamente difundidos, especialmente el 1b que podría ser el principal genotipo a nivel mundial, también se han hecho aparentes diferencias regionales en la distribución de genotipos. Además de esta distribución geográfica parece que la prevalencia de cada genotipo varía en función del grupo de riesgo. La identificación de los aislados específicos podría permitir el estudio de cadenas de transmisión y por tanto, tienen un interés epidemiológico grande (Alonso,1998).

Aunque algunos autores no encuentran asociación entre genotipos y gravedad de la enfermedad hepática, parece confirmarse el hecho de que los pacientes con el genotipo 1b tienen lesiones más graves de hígado y presentan una peor evolución. Así, parece establecerse cada vez con más certeza que los pacientes con el genotipo 1b tienen mayor probabilidad de desarrollar cirrosis y carcinoma hepatocelular. Además, los pacientes con genotipo 1b tienen poca respuesta al tratamiento con interferón. Mientras que, por el contrario, los pacientes con genotipo 2 presentan una mejor respuesta al interferón (Liang,2000).

Otro tema de interés ha sido el estudio de las consecuencias de la heterogeneidad genética y antigénica del VHC sobre el diagnóstico de la infección. Así la región genómica seleccionada en las técnicas de amplificación influye en la frecuencia de positividad encontrada, siendo la región 5'NC la preferida debido a su alto grado de conservación entre genotipos. También se ha encontrado un grado de sensibilidad y

especificidad en la respuesta serológica frente al VHC y que varía según el antígeno considerado, lo que podría afectar la capacidad de las técnicas usadas habitualmente para detectar la infección por los diversos genotipos. Es lo que sucede en los pacientes en los que no se han detectado anticuerpos anti-NS4, los cuales presentan unos porcentajes de positividad inferiores a aquellos que presentan anti-NS4 (Liang,2000).

Se han demostrado infecciones múltiples en un mismo individuo, lo cuál sugiere que la respuesta inmune frente a un genotipo no protege de la infección por otro y podría actuar como un mecanismo de selección de variantes, estos hechos que pueden afectar el desarrollo de futuras vacunas (Alonso, 1998).

2.4.6 Replicación del VHC

Estudios iniciales realizados mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) e hibridación "in situ", han mostrado que en el tejido hepático de pacientes infectados se puede encontrar tanto la forma genómica (cadena positiva) como la replicativa (cadena negativa) del VHC. Algunos autores también encuentran dichas formas en suero y en células mononucleares de sangre periférica, aunque la detección de formas replicativas en estas localizaciones podría ser un artefacto de la PCR. Estos estudios, junto con los realizados por comparación con otros *Flavivirus* han permitido una aproximación al mecanismo de replicación (Alonso, 1998).

La replicación del VHC comienza con la penetración del virus en las células hospedadoras, esta penetración tiene lugar a través de la interacción con receptores específicos en la superficie de la célula o por contacto directo con la célula diana. Pocos receptores han sido identificados para *Flavivirus* y *Pestivirus*, la identificación de receptores para HCV es parcialmente problemático porque no ha sido posible purificar suficientes partículas virales para hacer experimentos de unión con el receptor (Alonso, 1998).

Algunos experimentos demuestran que la unión de proteínas purificadas de la

envoltura a células humanas esta mediado por una proteína E2. Además se demostró que E2, tiene un C terminal trucado que se une a CD81 una proteína de superficie celular expresada en varias líneas celulares, incluidas hepatocitos y linfocitos B. Una horquilla extracelular grande de CD81, une a la proteína E2 de HCV y esta unión fue inhibida por anticuerpos neutralizando HCV. Otra hipótesis propone que HCV es tomado por el receptor de LDL y esta evidencia se apoya en la persistencia de HCV en las células en cultivo por una estimulación del receptor LDL (Arroyo,2001).

Después de la entrada, mediante la invaginación del virus, se pierde la envoltura, y se libera su genoma para empezar el ciclo de replicación, se ha demostrado que en los *Flavivirus* la pérdida de la envoltura es en un endosoma, que endocita, la partícula con todo y el receptor y que es un compartimento ácido. El medio ácido produce un cambio irreversible en la conformación de la envoltura proteíca y su subsecuente unión a la membrana del endosoma. Hay evidencias con estudios de alfavirus que sugieren que la nucleocápside, es liberada, en el citoplasma después de la fusión endosómica. Aquí comienza la asociación con ribosomas, interacción que es suficiente para liberar las proteínas de la cápside de la nucleocápside, el RNA genómico, es entonces un templado para la síntesis de proteínas (Krawitt, 1999).

La traducción del genoma de HCV, origina una poliproteína, que al cortarse, da lugar a proteínas estructurales y no estructurales del virus. Las proteínas no estructurales, sirven como factores, que junto con los elementos celulares, y el templado del RNA del HCV, forman un complejo de ribonucleoproteínas para la replicación, el cuál ha sido descrito también para el poliovirus. Las proteínas celulares que unen al templado de RNA, pueden funcionar junto con el RNA, para que se reconozcan como sitios de iniciación de la polimerasa viral, éstos pueden también determinar la especificidad del complejo, para el virus del RNA y consecuentemente contribuir al tropismo viral.

Estudios de microscopia electrónica con células infectadas con *Flavivirus*, demuestran la localización de algunas proteínas no estructurales y la doble cadena de RNA en estructuras membranales, o vesículas en la región perinuclear de células de hospedero. Es por eso que estas estructuras membranales son el sitio de replicación de RNA y por lo tanto parte del complejo de replicación viral. Este complejo de

replicación de HCV, no ha sido aislado, pero evidencias muestran que NS5B, se asocia con una proteína no estructural de HCV, en particular con NS3 y NS4A. La característica del complejo es la estrategia para la explicación que produce una cadena negativa, del genoma de RNA, la cuál, puede servir de templete para la producción de la cadena positiva de RNA (Méndez, 2003).

2.4.7 Ensamblaje del virión

Un virión maduro de HCV, posee una nucleocápside una envoltura interna compuesta de proteínas y una membrana lipídica. El ensamblaje del virión presumiblemente comienza con la interacción de la cápside de proteínas y el RNA genómico, para formar una nucleocápside, entonces, adquiere la envoltura, y el virión maduro es liberado de la célula infectada.

El mecanismo de empaquetamiento del RNA de HCV no ha sido determinado, pero las investigaciones en otros virus de RNA sugieren, que en ésta reacción, específicamente incorpora RNA viral, en el interior de la cápside y excluye totalmente RNA's celulares y la cadena negativa de RNA viral. La especificidad de guardar, la cadena positiva de RNA es debido a que posee señales de encapsulación, las cuales tienen una alta afinidad de unión, para las proteínas de la cápside (Liang,2000).

Evidencias de *Flavivirus* y *Alfavirus*, demuestran que la señal reside en la región no estructural codificada en el genoma. Otra explicación para la especificidad de empaquetamiento ha sido descrita para *Poliovirus* y es que el RNA viral, al replicarse, esta acoplado solamente al RNA, las regiones activamente replicadas son empaquetadas.

Los virus empacados, adquieren su segunda envoltura, ya sea de las membranas intracelulares o de la membrana plasmática. Estudios con microscopía electrónica de *Flavivirus*, han mostrado, que la nucleocápside formada, en el citoplasma, y metida en vesículas intracelulares, derivan del retículo endoplásmico, adquiriendo así, en este proceso la segunda envoltura. El virión ensamblado, es liberado de la célula por la vía

de la exocitosis. Esto es porque los complejos lipoproteína-HCV, son mayormente retenidos en el retículo endoplásmico, por lo tanto, la unión de HCV ocurre en retículo endoplásmico, o estructuras semejantes (Krawitt,1999).

No se conoce cómo la envoltura se añade a la nucleocápside, pero presumiblemente, las proteínas de la envoltura tienen una afinidad de unión a las proteínas ensambladas en la cápside, como ha sido demostrado en los *Alfavirus*. El proceso de unión puede deberse, a las interacciones entre las proteínas de la envoltura del virión y la nucleocápside. Alternativamente la transformación puede involucrar una interacción lateral de las proteínas de la envoltura, como ha sido sugerido para la unión de los *Alfavirus*. El mecanismo, puede explicar, como las proteínas virales y las de la membrana celular se distinguen, con lo cuál, las proteínas de la envoltura viral se incorporan al virión maduro, como se observa en la figura 11 (Liang,2000).

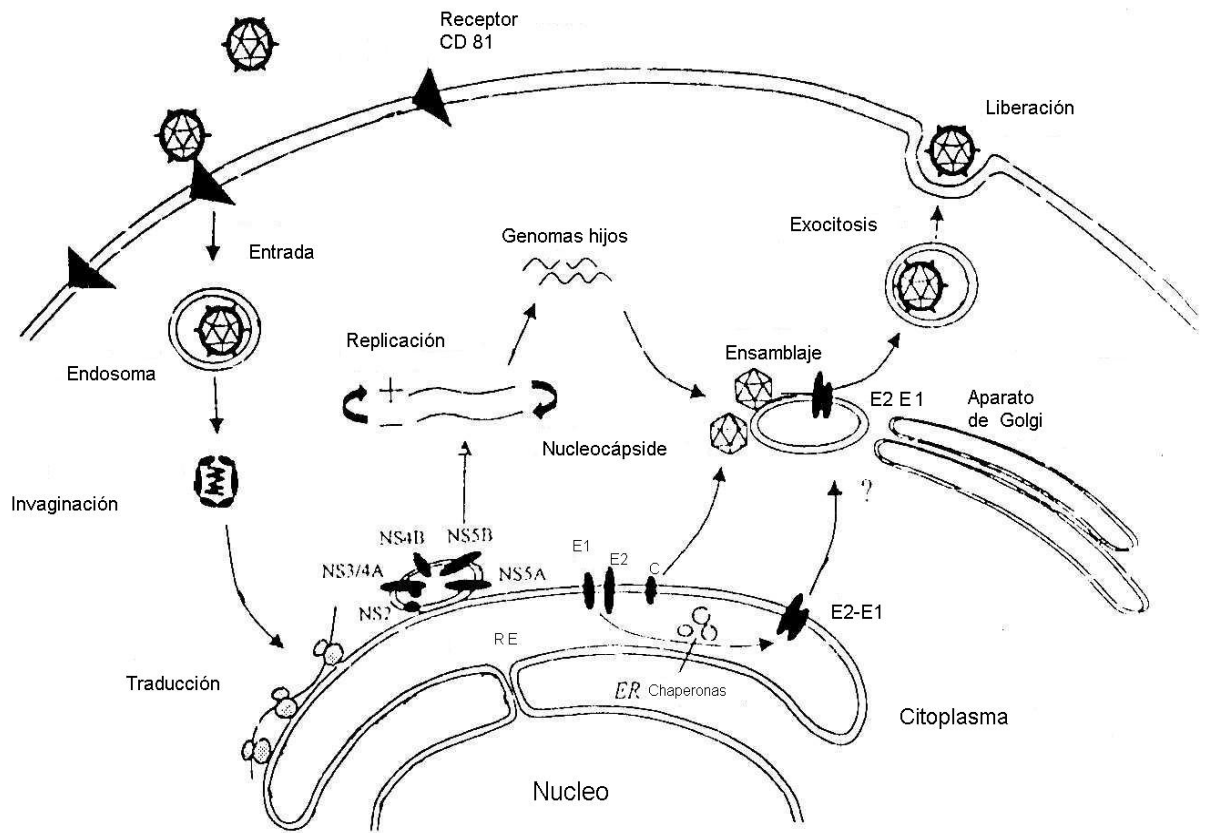


Figura 11. Esquema donde se postula el ciclo de replicación del VHC, derivado de investigaciones del VHC y otros virus de cadena positiva (Liang,2000).

2.4.8 Seropositividad

La seropositividad, está definida como la presencia en sangre periférica de anticuerpos contra antígenos de HCV como resultado de una infección previa. Anticuerpos dirigidos, ya sea, al centro estructural o a la organización de la envoltura y a antígenos no estructurales de HCV presentes en diferentes niveles. La variabilidad genética de HCV, junto con las diferencias genéticas dan la individualidad infectiva, muchos explican la aparente heterogeneidad como una respuesta humoral de anti-HCV. Este fenómeno puede ser usado con un propósito diagnóstico, ya que los anticuerpos genotipo específicos pueden ser diagnosticados del genotipo infectivo (Liang,2000).

2.4.9 Viremia

La viremia del HCV es definida como la presencia de RNA de HCV en suero o plasma y se debe al hecho de una activa replicación de HCV. Como se muestra en la figura 11 el HCV es producido en grandes cantidades en el hígado y aparentemente un poco menos en sitios de replicación extrahepática.

Una minoría de viriones producida de novo, infectan a nuevas células, mientras que los remanentes son liberados continuamente a la circulación general. Las partículas de HCV circulantes son catabolizadas continuamente, y son degradadas en compartimentos, para lo cuál parece ser que la respuesta inmune es quien juega un papel mayor. La mínima cantidad diaria de HCV producido está estimada de 10^{12} viriones con una vida media máxima en el suero de tres horas (Del Favero,1998).

Un estado dinámico se establece durante la infección crónica, la cantidad del genoma viral circulante por volumen de suero o plasma, no varía significativamente en periodos de meses o años. Ensayos cuantitativos para la medición de HCV han sido utilizados, e introducidos en una base de datos con un modelo matemático, de la cinética de replicación de HCV, el tratamiento muestra una cantidad estimada constante en el hígado, por replicación de HCV (Del Favero,1998).

2.4.10 Cuasispecies

El HCV, como muchos otros virus de RNA, no circula en individuos infectados como una población homogénea de partículas virales idénticas, pero sí como un conjunto genéticamente distinto, como variantes cercanas y relacionadas a las cuales se les conoce colectivamente como cuasispecies. La naturaleza de las cuasispecies de HCV, le confieren una ventaja de sobrevivencia significativa, la presencia simultánea de muchas variantes de genomas y el alto rango con el cuál se generan nuevas variantes, dan como consecuencia una rápida selección de mutantes mejor capacitadas para las nuevas condiciones ambientales. Esto muestra que la naturaleza de las cuasispecies de HCV, juega un papel muy importante en todos los aspectos de la infección (Krawitt,1999).

2.4.11 Distribución de los genomas de HCV y de las cuasispecies

La heterogeneidad viral, resulta primariamente de un alto rango de error de la RNA polimerasa dependiente de RNA, enzima codificada por el gen NS5b, tiene un rango de frecuencia de desincorporación de cerca de 10^{-4} a 10^{-5} por base, y no se han identificado, mecanismos de corrección. En un individuo, el rango con el cuál se acumulan las mutaciones durante la replicación dependen del nivel de fidelidad de la RNA polimerasa viral, la cuál por si misma varía de un genotipo original o de una cuasispecies a otra, dando una variedad de mutación relevante y de una cinética de replicación viral (Liang,2000).

La mayoría de las partículas virales mutantes se replican deficientemente, pero algunas se propagan eficientemente. Las partículas infectivas son seleccionadas continuamente en base a su capacidad de replicación, por la presión selectiva resultante de la respuesta inmune. Durante la infección crónica las cuasispecies virales se encuentran todo el tiempo en un estado de equilibrio (Del Favero,1998).

Su composición puede sin embargo ser alterada sensible y fuertemente por cambios

ambientales. Estos cambios pueden ser espontáneos relacionados con las complejas interacciones metabólicas con el hospedero o ser blanco de factores externos, como infecciones recurrentes, toma de fármacos o tratamientos antivirales. Las características de las cuasispecies de HCV, pueden ser estudiados por métodos de biología molecular. La naturaleza de los genomas de las cuasispecies de HCV, tiene gran importancia en la persistencia, compartimentalización, tropismo celular, severidad y diseminación de la enfermedad de HCV y resistencia de HCV a la terapia con interferón (Liang,2000).

3.0 DIAGNÓSTICO DE LA HEPATITIS

3.1 DIAGNÓSTICO DE LA HEPATITIS A

La hepatitis A es una enfermedad extendida por todo el mundo, no dependiendo de la raza ni del género, el grado de endemidad puede reconocerse por la prevalencia de los anticuerpos anti-VHA totales. En los países subdesarrollados, la mayoría de la población se infecta e inmuniza en los primeros años de vida. En países con alto nivel de desarrollo, la población se infecta de hepatitis A en edades tardías, en que las consecuencias de la infección son más aparentes por su mayor gravedad que en la infancia.

El virus es excretado por vía fecal, por ello la forma de transmisión del virus es fecal-oral. El contagio ocurre de persona a persona o por la ingesta de agua o alimentos como verduras o mariscos contaminados. La transmisión por vía parenteral es extremadamente rara ya que no hay portadores crónicos y el periodo de viremia es muy corto. La infectividad en saliva, orina, flujo vaginal y semen parece incierta. La transmisión materno fetal no está reconocida como tal (Herrerías, 1996).

La eliminación del virus de hepatitis A (HVA) determinada por inmuno-microscopía electrónica de las heces, ocurre hasta dos semanas antes de la enfermedad clínica. Rara vez se demuestra este virus en las heces después de la tercera semana de la infección. No hay un estado de portador conocido de HVA. La sangre y las heces son infecciosas durante el periodo de incubación (dos a seis semanas) y al inicio de la enfermedad, hasta que se alcanzan los valores máximos de transaminasas. Es rara la hepatitis postransfusión por virus HVA. Aunque la mortalidad de la hepatitis A es baja, puede causar enfermedad fulminante (Tierney, 2003). Las elevaciones más constantes son elevaciones de la bilirrubina con incremento de ambas fracciones y el aumento de la actividad de las transaminasas séricas. Estas se hallan habitualmente de 20 a 40 veces por encima de los valores normales, con mayor actividad de la ALAT que de la ASAT. La actividad de la fosfatasa alcalina está moderadamente aumentada, así como la de la GGTP(gamaglutamil transpeptidasa). La VSG

(velocidad de sedimentación globular) y el proteinograma son habitualmente normales así como las pruebas de coagulación (Herrerías, 1996).

El virus de la hepatitis A es endémico a nivel mundial y aproximadamente el 80 % de adultos en áreas de África y Asia tienen evidencias serológicas de la exposición. La infección por VHA no es crónica (Krawitt, 1999).

Los anticuerpos contra la hepatitis A (anti-HVA) aparecen tempranamente durante el curso de la enfermedad, se detectan tanto IgM como IgG anti-HVA en suero poco después del inicio de la enfermedad. Los valores máximos de IgM anti-HVA se manifiestan durante la primera semana de la enfermedad clínica y suelen desaparecer de tres a seis meses, su detección es una prueba excelente para diagnosticar hepatitis A aguda. Los títulos de IgG alcanzan su valor máximo después de un mes de la enfermedad y puede persistir durante años, como se observa en la figura 12. La presencia de IgG anti-VHA sola indica una exposición previa, no infectividad e inmunidad a la infección recurrente por el virus de la hepatitis A (Tierney,2003).

El diagnóstico de la infección aguda de HAV, es hecha por EIA (enzimo inmuno ensayo) serológico de IgM. Este ensayo es dirigido para partes de la proteína de la cápside, ésta no varía significativamente entre diferentes cadenas de RNA. Los niveles de RNA del HVA en heces y sangre, declina con el tiempo, los cuales se demuestra en pacientes que son usualmente no infecciosos, durante el tiempo de presentación, este ensayo tiene tanto especificidad como sensibilidad superior al 99% (Krawitt).

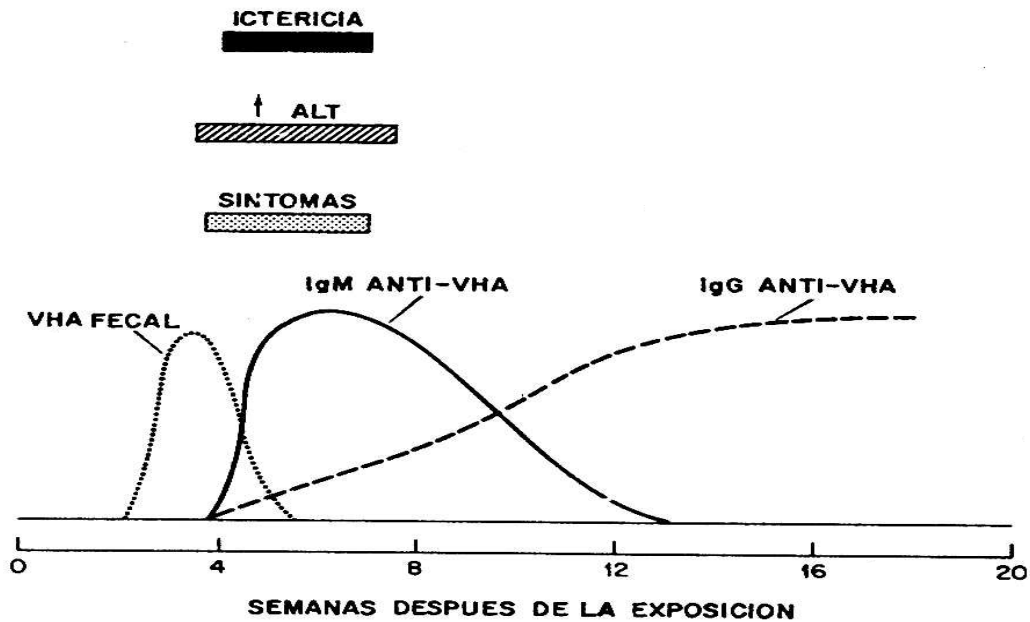


Figura 12. Esquema de las manifestaciones clínicas y de laboratorio típicas producidas por el virus de la hepatitis A (Friedman, 1998).

3.2 DIAGNOSTICO DE LA HEPATITIS B

La hepatitis B es una infección viral del hígado que suele transmitirse por inoculación de sangre o productos hematológicos infectados. Sin embargo, el antígeno se encuentra en todas las secreciones corporales y se sabe que la enfermedad puede ser diseminada por contacto oral o sexual. Un 5 a 10% de los individuos infectados se tornan en portadores, proporcionando un reservorio importante de infección. Del 40 a 70% de los niños que nacen de madres HBsAg positivas, desarrollará anticuerpos a hepatitis B en el torrente sanguíneo. También se ha comprobado la transmisión fecal oral del virus B. El periodo de incubación es de seis semanas a seis meses, pero

puede prolongarse por la administración de la globulina hiperinmune (Tierney,2003).

Hay tres sistemas antígeno-anticuerpo distintos que se relacionan con la infección por HBV y una diversidad de marcadores circulantes que son útiles en el diagnóstico.

1.- HBsAg: La aparición del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) es la primera prueba de infección por HBV y parece que se presenta antes de la evidencia bioquímica de enfermedad del hígado. El HBsAg persiste durante todo el transcurso de la enfermedad clínica, su permanencia después de la enfermedad aguda, puede vincularse con las manifestaciones clínicas y de laboratorio de hepatitis crónica durante periodos variables. La detección de HBsAg establece la infección con HBV e implica infectividad.

2.- Anti-HBs: El anticuerpo específico contra HBsAg (Anti-HBs) aparece en la mayoría de los individuos luego de la eliminación de HBsAg y de la vacunación con éxito contra la hepatitis B. La desaparición de HBsAg y la aparición de anti-HBs señala recuperación de la infección por HBV, no infectividad y protección a la infección recurrente por HBV (Tierney, 2003).

3.- Anti-HBc: La IgM anti-HBc aparece poco después de que se detecta el HBsAg. El HBcAg no aparece sólo en el suero. Su presencia en un estado de hepatitis aguda indica un diagnóstico de hepatitis B aguda, y cubre la brecha serológica de los pacientes que han eliminado el HBsAg, pero que aún no tienen anti-HBs detectable. La IgM anti-HBc puede persistir por 3 a 6 meses o más y puede también reaparecer durante los brotes de hepatitis B crónica previamente inactiva. La IgG anti-HBc también aparece durante la hepatitis B aguda, pero persiste indefinidamente, ya sea que el paciente se recupere (con la aparición de anti-HBs en suero) o desarrolle hepatitis B crónica (con persistencia de HBsAg). En donadores de sangre asintomáticos, un solo resultado positivo para anti-HBc, sin ningún otro resultado serológico positivo para HBV, puede representar un resultado positivo falso o una infección latente, donde el DNA del HBV se detecta en suero sólo por medio del método de la reacción en cadena de la polimerasa.

4.- HBeAg: El HBeAg es una proteína soluble que se encuentra únicamente en el suero positivo a HBsAg. Representa una forma secretora de HBeAg que aparece durante el periodo de incubación poco después de la detección de HBsAg. El HBeAg indica replicación viral e infectividad. La persistencia de HBeAg en el suero más allá de tres meses sugiere un aumento en la probabilidad de hepatitis B crónica. La desaparición de anti-HBeAg frecuentemente es seguida por la aparición de anti-HBe, lo cuál significa un decremento en la replicación viral y reducción de la infectividad (Tierney, 2003).

5.- DNA de HBV: La presencia de DNA de HBV en el suero generalmente es paralela a la de HBeAg, aunque el DNA de HBV es un marcador más sensible y preciso de replicación viral e infectividad. Pueden persistir en el suero valores muy bajos de DNA de HBV, detectable sólo mediante reacción en cadena de la polimerasa, después de que un paciente se ha recuperado la hepatitis B aguda, pero el DNA del HBV está unido a IgG y rara vez es infeccioso. En algunos pacientes con hepatitis B crónica puede estar presente el DNA de HBV a concentraciones altas sin HBeAg en el suero debido a la mutación que evita su síntesis en los hepatocitos infectados (mutante prenúcleo).

El mutante prenúcleo aparece durante el curso de la infección crónica por el HBV “tipo natural”, supuestamente como resultado de la presión inmunitaria. Cuando se presentan mutaciones adicionales en el gen del núcleo, el mutante prenúcleo aumenta la gravedad del HBV e incrementa el riesgo de cirrosis (Tierney,2003).

3.2.1 Diagnóstico de la hepatitis B crónica

La evolución a la cronicidad de la infección por hepatitis B, sucede, cuando el antígeno de superficie de HBsAg persiste en suero por más de seis meses. Esto es debido a la inhabilidad del sistema inmune para producir cantidades suficientes de anticuerpos para hepatitis B (anti-HBs) y anticuerpos directamente contra HBsAg, el cuál es neutralizado y protector y usualmente anuncio de resolución de la infección. Del 10-15% de los pacientes, pueden tener detectables ambos HBsAg y anti-HBs.

Pacientes quienes son persistentemente HBsAg positivos deben pasar por evaluaciones para determinar la actividad de la replicación del HBV. La evaluación debe incluir DNA, HBeAg, y anti-HBe de HBV en suero.

En algunos pacientes con replicación activa del virus de hepatitis B, se detecta tanto DNA como HBeAg del HBV. La presencia de éstos en circulación es identificada en pacientes quienes posiblemente puedan beneficiarse de la terapia antiviral y también proporciona parámetros de respuesta a la terapia.

La replicación viral también puede decrecer lentamente en función del tiempo o la actividad viral puede fluctuar en periodos de una aparente quiescencia a una muy dinámica reproducción viral. El periodo de inactividad viral o baja replicación es caracterizado por una reacción positiva HBsAg, no se detecta el DNA de HBV, HBeAg y las aminotransferasas en suero. Pacientes con el estado viral latente son llamados portadores sanos (Liang,2003).

Pacientes quienes han recibido la vacuna de HB, desarrollan anti-HBs detectable. Sin embargo, la vacuna contiene únicamente los antígenos de superficie del virus y no tiene inmunidad contra la región central del virus. Es por eso que un paciente que ha desarrollado inmunidad después de la vacunación no se le detecta anti-HBc. Cualquier paciente que tiene ambas, tanto anti-HBs, como anti-HBc, es por que tiene inmunidad por su exposición al virus y no a la vacuna. Sin embargo, el título de anti-HBs tiende a ser alto, en aquellos pacientes que adquirieron inmunidad después de su exposición al VHB, y decrece lentamente el anti-HBs que se desarrolla después de la vacunación.

El aislamiento del anticuerpo positivo del antígeno core de la hepatitis B, ocurre cuando un paciente ha tenido un muy largo periodo de hepatitis B. Este paciente es un portador crónico y tiene un anti-HBs positivo, pero declina su título a ser bajo en función del tiempo, justo en los límites de detección de los ensayos estándar. En esta situación si el paciente es vacunado puede propulsar el aumento del título del anticuerpo y ahora sí sea detectado por el ensayo convencional anti-HBs (Arroyo,1999).

Otra posibilidad es que el paciente puede tener niveles verdaderamente bajos de infección viral con HBsAg positivo, pero debajo del límite de detección para el ensayo de HBsAg. Para resolver este problema, el paciente puede ser vacunado con la vacuna de hepatitis B y la falta de anti-HBs en 2 meses, sugiere inhabilidad para montar una respuesta inmune, porque continua la presencia del virus (en niveles muy bajos). Alternativamente la PCR, puede ser usada para detectar niveles bajos de DNA de HBV en suero, y demuestra la presencia del virus (Ceredo,2000).

Algunos pacientes tienen HBsAg positiva y DNA de HBV positiva, pero HBeAg no detectable. Muchos de estos pacientes tienen una mutación particular precore que introduce un codón dentro de la secuencia de nucleótidos de HBV, y evita la producción de HBeAg. Esta forma particular de infección por HBV, si bien está descrita primero en países mediterráneos, también ocurre por toda Europa y Estados Unidos. En cuanto al comparado del tipo salvaje, con pacientes con HBe positivo y pacientes infectados con el prenúcleo mutante de HBV, tienden a decrecer la respuesta para interferón alfa y aumenta la proporción de recidiva de la posterapia.

Algunos pacientes presentan HBsAg y DNA de HBV positivo, pero HBe no detectable. Muchos de estos pacientes tienen una particular mutación precore que introduce un alto dentro del codón de la secuencia de nucleótidos de HBV y evita la producción de HBeAg. Esta particular forma de infección del HBV la describieron primero países mediterráneos, también ocurre por toda Europa y Estados Unidos. Comparando a pacientes que son HBeAg-positivos con HBV del tipo salvaje, y pacientes infectados con el precore mutante, se observa un decremento en la respuesta del interferón alfa y alta reincidencia posterapia (Del Favero,1998).

Algunos pacientes presentan HBsAg positivo y aminotransferasas elevadas, pero DNA y HBeAg no detectable, como se observa en la figura 13. En éstos pacientes es difícil excluir otras causas de enfermedad hepática. Es probable que algunos de estos pacientes tienen DNA de HBV presente en suero, pero los niveles que son demasiado bajos para detectarse con pruebas comerciales de DNA. Nuevos ensayos cuantitativos de PCR son desarrollados actualmente. Este incremento de sensibilidad

puede identificar DNA de HBV en algunos de éstos pacientes.

Aproximadamente el 10% de pacientes con HBV, se coinfectan con HCV, sin embargo algunos de éstos números varían dependiendo de la población de los pacientes. El tratamiento de éste grupo de pacientes es complicado, ya que estos presentan una infección más severa que la observada con virus sólo (Krawitt, 1999).

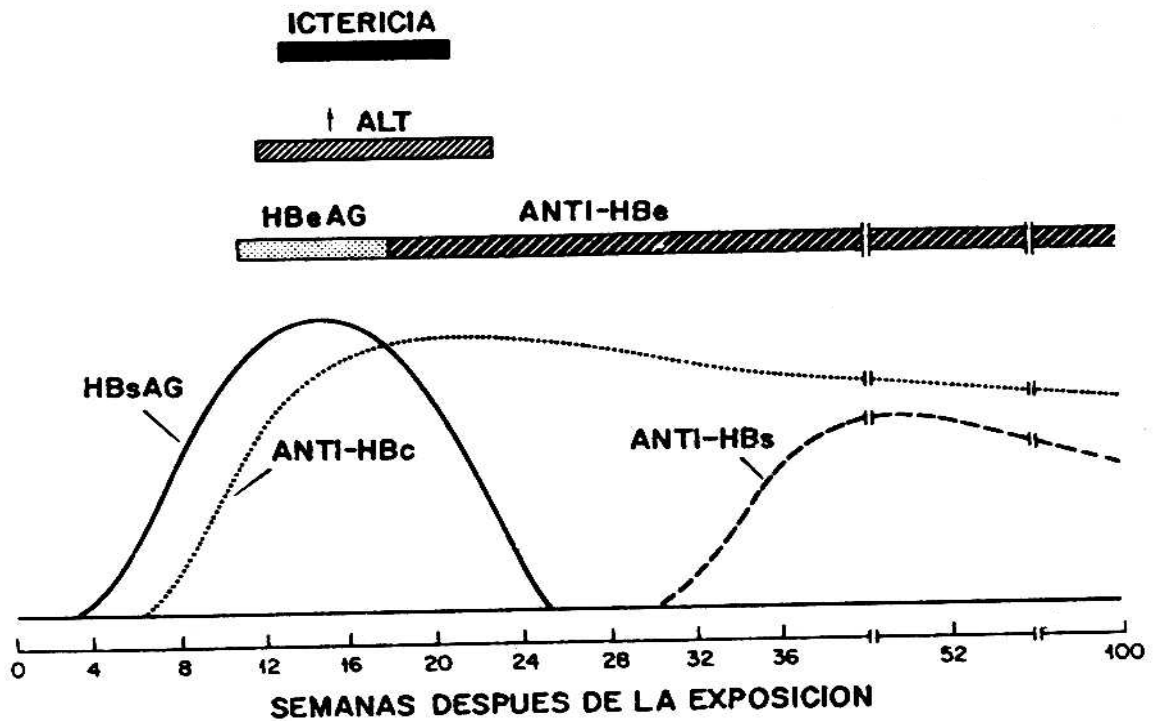


Figura 13. Esquema de las manifestaciones típicas y de laboratorio de la hepatitis viral aguda tipo B (Friedman, 1998).

3.3 DIAGNOSTICO DE LA HEPATITIS C

El diagnóstico de laboratorio de la infección por VHC es fundamentalmente serológico y se basa en la detección de anti-VHC. La detección del RNA viral y la determinación del genotipo son, en determinadas circunstancias, una importante ayuda diagnóstica, en particular en aquellos pacientes susceptibles a ser tratados.

En la figura 14 se pueden observar partículas virales de aproximadamente 50 nm de diámetro en células HPBALL (células T preparadas por D. Simmons) después de 14 días de infección con el virus de la hepatitis C (Fields,1996).



Figura 14. Partículas virales del VHC (Fields,1996).

3.3.1 Diagnóstico serológico de la infección por VHC

3.3.1.1 Pruebas de primera generación.

Utilizando plasma de chimpancés infectados, Choo y colaboradores (1989) identificaron un clon (5-1-1) a partir del cual se obtuvo un antígeno recombinante de E.coli, que unía específicamente anticuerpos presentes en el suero de pacientes con hepatitis noA noB crónica. Este hallazgo condujo a la identificación del VHC y al desarrollo de la primera prueba para detectar anticuerpos circulantes. A partir del clon 5-1-1 se aislaron tres clones que se solapaban (clones 32, 36 y 81) lo que permitió la reconstrucción de un clon (clon C100) que correspondía a casi toda la región NS4 del VHC, como se observa en la figura 15. El clon C100 fue fusionado con el gen humano que codifica para la superóxido dismutasa, y expresado en levaduras. El péptido de fusión resultante (C100-3) fue usado para desarrollar pruebas para la detección de anti-VHC (Alonso,1998).

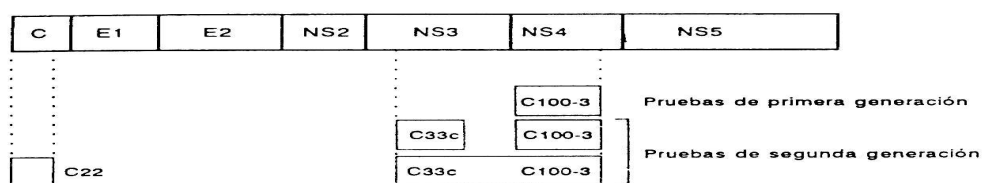


Figura 15. Antígenos del VHC utilizados en las pruebas de primera y segunda generación (Alonso, 1998).

3.3.1.2 Pruebas de monitoreo

La primera prueba para anti-VHC fue desarrollada a partir de antígenos recombinantes proporcionados por la compañía Chiron Corporation. Se trataba de un enzimoimmunoensayo (EIA) indirecto, donde los pocillos de las placas microtiter se

habían revestido con la proteína C100-3. Posteriormente, se desarrollaron otras modalidades de EIA de primera generación (EIA-1) utilizando como soporte esferas de poliestireno recubiertas del Ag C100-3 (Alonso,1998).

3.3.1.3 Pruebas de confirmación y otras pruebas suplementarias

La primera prueba confirmatoria consistía en una técnica de tipo inmunoblot que usaba antígenos recombinantes (RIBA-1). Los antígenos utilizados fueron el C1003, producido en levaduras, el 5-1-1, producido en *E. coli*, y la superóxido dismutasa humana (SOD). Los antígenos C100-3 y 5-1-1 estaban fusionados a la SOD, la cuál estaba presente como un control para detectar la presencia de anticuerpos inespecíficos. También se incluían como controles internos dos niveles de IgG humana. Además de las pruebas de inmunoblot, se desarrollaron otras pruebas complementarias que permitieran un diagnóstico más confiable de la hepatitis C. Entre estas destacan las pruebas de neutralización y la utilización de péptidos sintéticos.

En las pruebas de neutralización se utilizaron antígenos recombinantes de VHC en solución, que actuaban bloqueando la unión de los anti-VHC a esferas de poliestireno revestidas de Ag VHC de reacción. En estos casos el antígeno utilizado también fue el C100-3.

También se utilizaron péptidos sintéticos que correspondían a regiones inmunodominantes del antígeno C100-3 uno de los péptidos contenía toda la secuencia de 5-1-1 y el otro estaba localizado en el extremo C-terminal del antígeno C100-3.

Los ensayos de primera generación permitieron la identificación de la infección por VHC en la mayoría de los receptores de transfusiones que desarrollaron hepatitis noA noB además, también se pudo identificar en la mayoría de los donantes implicados. Algunos donantes y receptores, así como pacientes con hepatitis C crónica fueron negativos en las pruebas de primera generación, lo que puso en evidencia que los equipos desarrollados hasta el momento presentaban una sensibilidad baja (Méndez,

2003).

La sensibilidad de las pruebas de primera generación dependía de la población estudiada, siendo más elevada (80-90%) en pacientes con factores de riesgo parenteral y transaminasas elevadas y más baja (60%) en donantes de sangre voluntarios. Este déficit de sensibilidad de las pruebas de primera generación se atribuyó a diversos factores, tales como la variabilidad genómica de VHC, la aparición tardía de los anticuerpos en enfermedad aguda e incluso porque algunos sujetos nunca adquirían anti-C100-3 ó los perdían rápidamente.

Por otra parte, estas primeras pruebas también presentaban una falta de especificidad importante ya que se podían encontrar falsos positivos en pacientes con anticuerpos frente a la SOD, en sueros almacenados durante largo tiempo, en pacientes de regiones tropicales e incluso después de la vacunación antigripal y en situaciones que cursaban con hiperglobulinemia o con la presencia de factor reumatoide. Así, aunque la implementación de estas pruebas en los bancos de sangre a principios de los años 90 contribuyó a la reducción en más de un 80% del riesgo de hepatitis postransfusional por cada unidad de sangre transfundida, su déficit de sensibilidad y especificidad condujo al desarrollo de nuevas pruebas (Alonso,1998).

3.3.1.4 Pruebas de segunda y tercera generación

Las pruebas de segunda y tercera generación (EIAs y pruebas de tipo inmunoblot) incorporaron epítopes adicionales de origen estructural y no estructural. De esta manera se incluyeron en diversas combinaciones, según el fabricante, antígenos del core y de las regiones NS3, NS4 y NS5, tanto de origen recombinante como de síntesis.

Los ensayos de segunda generación mejoraron considerablemente la sensibilidad que presentaban los equipos de primera generación debido a la inclusión de antígenos derivados del core y de la región NS3. Los anticuerpos frente a los antígenos C22 (derivado del core) y C33c (derivado de la región NS3) son detectables más tempranamente después de la infección, de manera más regular y durante periodos

de tiempo más amplios que los anticuerpos frente a C100-3. En la mayoría de los pacientes se detecta la seroconversión dentro de las primeras cuatro semanas del inicio de los síntomas cuando se utilizan equipos de primera generación. La mejora de la sensibilidad conseguida con estas pruebas ha permitido detectar anti-VHC hasta en el 95% de las hepatitis postranfusionales noA noB. También se ha mejorado la seguridad de la transfusión sanguínea (Liang, 2000).

Así, en un estudio realizado por Janot y colaboradores (1992), se encontró que los donantes infectados por VHC detectados mediante inmunoblot (positivos o indeterminados por el RIBA II), un 40% no fueron detectados por las pruebas de primera generación. Los ensayos de tercera generación, desarrollados posteriormente, incorporan un antígeno adicional de la región NS5. Sin embargo, permanece controvertida su implicación en un incremento de la sensibilidad y/o especificidad de las pruebas que incluyen este antígeno en relación con las de segunda generación, si bien este antígeno se ha incluido progresivamente en la mayoría de los equipos de diagnóstico comerciales.

Aunque algunos autores han demostrado un aumento de la especificidad con los EIAs de segunda generación, ésta continúa siendo un problema. La reactividad frente a la superóxidodismutasa y frente a las proteínas de levadura y *E. coli*, puede reducirse incluyendo estas proteínas en las soluciones de dilución. Sin embargo, las tasas de falsos positivos permanecen elevadas y no sólo en determinadas circunstancias, como en los casos de sueros procedentes de África o en pacientes hiperglobulinémicos sino también en donantes de sangre. Incluso en algunos estudios como los de Vytendaele y colaboradores (1994), el valor predictivo positivo de una prueba de tercera generación ha sido tan sólo del 50% cuando se ha utilizado en donantes de sangre (Krawitt, 1999).

3.3.1.5 Otras pruebas serológicas

Además de las pruebas anteriormente mencionadas destinadas a la detección y confirmación de anti-VHC, se han investigado otros marcadores serológicos: la

detección de IgM anti-core del VHC (IgM- VHC) y de anticuerpos frente a las glicoproteínas de la envoltura viral (anti E1/E2). Entre los usos teóricos de la detección de IgM-VHC se encuentran el acortamiento del intervalo de seroconversión y la correlación con la presencia de RNA-VHC en suero.

En el caso de glicoproteínas de envoltura, parece ser que la generación de los epítopes antigénicos que puedan ser reconocidos por los anticuerpos del paciente dependen de la glicosilación y/o de la formación de complejos entre E1/E2. Esta relación es demostrada por el hecho de que el porcentaje de reactividad es muy inferior frente a los antígenos producidos en células de mamíferos, las cuales permiten la glicosilación y el desarrollo de la compleja estructura de las proteínas víricas (Alonso, 1998).

Se ha sugerido que la inclusión de proteínas nativas de la envoltura en las pruebas para anti-VHC podría aumentar la sensibilidad de las pruebas, pudiéndose incluso detectar anticuerpos en pacientes inmunodeprimidos donde fallan las pruebas convencionales. También podrían acortar el periodo de seroconversión y ayudar en la resolución de serologías indeterminadas. Además, anticuerpos frente a la envoltura podrían estar estrechamente relacionados con la presencia de viremia (Méndez, 2003).

3.3.2 Detección del RNA del VHC

Las pruebas serológicas para el diagnóstico de la infección por VHC presentan algunos inconvenientes. Así, estas pruebas no pueden discriminar entre infección resuelta o actual. Además, los anticuerpos no están presentes en el suero durante el intervalo de tiempo variable después de la infección. Incluso se ha descrito la pérdida espontánea de anticuerpos en pacientes infectados. Por tanto, ha sido necesario recurrir a métodos de diagnóstico directos para determinar si realmente existe una infección en curso por VHC (Alonso, 1998).

Puesto que no existen métodos de cultivo asequibles ni un modelo animal adecuado

para el laboratorio clínico y no está disponible ninguna prueba de inmunoensayo para detectar antígenos víricos en suero, la viremia de VHC sólo se puede diagnosticar mediante la detección del RNA-VHC.

Aunque la detección del RNA-VHC se puede utilizar en varios tipos de muestras (suero, plasma, tejido hepático, células mononucleares de sangre periférica), el tipo de muestra más utilizado con fines clínicos es el suero. La escasa cantidad de partículas víricas presentes en el suero hace necesaria la amplificación de secuencias específicas del RNA del VHC para que se pueda detectar el genoma vírico. Existen varios métodos disponibles, siendo el más utilizado la reacción en cadena de la polimerasa previa transcripción reversa (RT-PCR) (Krawitt,1999).

Otros métodos aplicados en la detección del RNA-VHC son la reacción en cadena de la ligasa (LCR) y la amplificación basada en secuencias de ácidos nucleicos. Otro método utilizado en la detección del RNA-VHC basado en la amplificación de la señal y no en la amplificación del genoma, es la prueba del DNA ramificado (bdDNA), que se describe en la tabla 5, el cuál permite la determinación cuantitativa de los niveles de RNA en suero de pacientes con una carga viral alta. Las aplicaciones de la detección del RNA-VHC en la investigación y en el diagnóstico se muestra en la siguiente tabla (Theo,1994).

Tabla 4. Aplicaciones de la detección del RNA del virus de la hepatitis C

1.- Diagnóstico de la infección en estadíos tempranos, antes de la aparición de anti-VHC
2.- Confirmación de la infección en pacientes con anti-VHC
3.- Distinción entre la infección actual y resuelta
4.- Marcador de evolución de la enfermedad
5.- Estudios de la asociación entre la infección por VHC y enfermedades autoinmunes
6.- Prueba de referencia para la validación de los EIAs anti-VHC

- 7.- Monitorización del tratamiento de la hepatitis C
- 8.- Estudio de los mecanismos de transmisión del VHC
- 9.- Diagnóstico de la infección en el recién nacido de madre infectada
- 10.- Estudio de la infección por VHC en pacientes transplantados
- 11.- Estudios de la replicación del VHC (detección de cadena negativa)
- 12.- Detección de VHC en sangre y hemoderivados de donantes seronegativos
- 13.- Estudios de variabilidad genómica del VHC

(Theo,1994).

3.3.2.1 Reacción en cadena de la polimerasa previa transcripción reversa

Puesto que el VHC es un virus RNA y la PCR amplifica DNA, las secuencias del VHC que van a amplificarse deben ser previamente transcritas a DNA complementario (cDNA), éste cDNA es posteriormente amplificado mediante PCR. Además de la PCR en la tabla 5 se describen otras técnicas utilizadas para la detección de RNA.

Tabla 5. Técnicas más utilizadas para la detección de RNA del virus de hepatitis C

TÉCNICA	FUNDAMENTO	PROCEDIMIENTO	OBTIENE
Reacción en cadena de la polimerasa, previa transcripción reversa	Transcribir previamente secuencias del VHC a cDNA éste DNA es amplificado mediante PCR	Desnaturalización para obtener DNA de cadena única. Unión de los cebadores a las secuencias complementarias del DNA diana.	DNA complementario

		Síntesis de cadenas complementarias de DNA nuevas	
Reacción en cadena de la ligasa	Se basa en ciclos repetitivos de unión de sondas de oligonucleótidos yuxtapuestos del ácido nucleico diana	Unión de dos pares de oligonucleótidos a secuencias diana. La ligasa une a cada par y oligonucleótidos si existe complementariedad de bases con la secuencia diana. Calentamiento para desnaturalizar el producto de doble cadena formado y permitir así el inicio de un nuevo ciclo	DNA
Amplificación basada en secuencias de ácidos nucleicos	Ciclos repetitivos de DNA complementario, utiliza la acción de tres enzimas que amplifican en condiciones isotérmicas el RNA diana.	Formación de cDNA a partir de RNA diana mediante el uso de "primers" que contienen un sitio de unión para la RNA polimerasa del bacteriofago T7. La RNasa H degrada la cadena de RNA en el híbrido RNA-DNA. A partir del cDNA de cadena única, mediante la acción de la transcriptasa reversa, se forma cDNA de doble cadena, el cuál es transcrito a múltiples copias de RNA por acción de la RNA polimerasa.	Amplificación del RNA
Prueba del DNA ramificado	Hibridación en sandwich. La emisión de luz es directamente proporcional a la cantidad de RNA de VHC presente en la muestra	El RNA es extraído de los viriones y ligado a la fase sólida de una microplaca. Posteriormente, unas sondas DNA diana hibridan con el RNA viral y con moléculas de DNA ramificado (bDNA), éstas moléculas contienen un único segmento primario y	DNA y RNA

		<p>una serie de segmentos secundarios idénticos unidos covalentemente a la secuencia primaria. A los segmentos secundarios se unen, mediante hibridación, múltiples copias de una sonda marcada con fosfatasa alcalina. La detección se efectúa mediante la incubación del complejo con un sustrato quimioluminiscente</p>	
--	--	--	--

(Alonso,1998).

3.3.3 Identificación de los genotipos infectantes

3.3.3.1 Genotipado del VHC

Actualmente se reconocen 6 genotipos diferentes (1 a 6) basándose en el análisis de la secuencia de las regiones core, E1 y NS5. Dentro de cada uno de estos genotipos se reconocen varios subtipos (1a,1b,1c, etc.) de los que se han descrito más de 50 (70,278,279). El método fundamental para la identificación de genotipos es la secuenciación del DNA amplificado a partir de RNA de diferentes regiones del VHC y la identificación de sustituciones de nucleótidos que están siempre conservados en un tipo particular y no existen otros. Una vez efectuado este primer paso, es relativamente sencillo el desarrollo de métodos para el genotipaje de muestras. Los métodos basados en el uso de la PCR puede utilizar cebadores o “primers” tipo específicos diseñados para unirse a secuencias definidas de un determinado genotipo y que, por lo tanto, no amplifica secuencias de otros tipos (Alonso,1998).

El DNA amplificado de manera no selectiva puede analizarse mediante secuenciación directa de nucleótidos, clivage con enzimas de restricción y electroforesis de los fragmentos de DNA (RFLP) o mediante ensayos de hibridación mediante sondas específicas. La región codificadora del genoma del VHC es tan variable que impide la

amplificación de todos los tipos usando el mismo equipo de “primers”. Por esta razón se suele escoger la región 5’ NC, en la que es fácil encontrar secuencias conservadas. También se pueden utilizar “primers” conservados de distintos genotipos (Méndez, 2003).

Tabla 6. Métodos utilizados en la identificación de genotipos del VHC

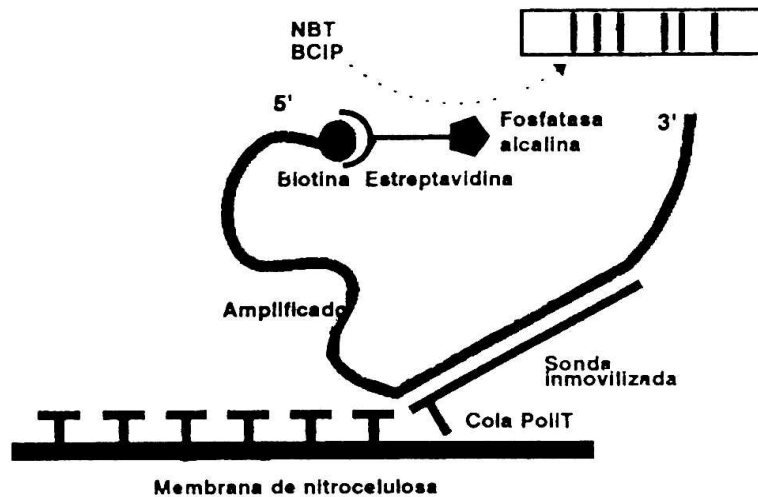
<p>A. Métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)</p> <ol style="list-style-type: none">1. Amplificación y secuenciación de las regiones genómicas: NS5, E1,5’NC. NS3, core2. Uso de “primers” tipo específicos: core3. Clivaje con endonucleasas de restricción y electroforesis de los fragmentos amplicones (RFLP)4. Hibridación de los amplicones con sondas tipo y subtipo específicas <p>B. Métodos serológicos</p> <ol style="list-style-type: none">1. Uso de péptidos sintéticos tipo específicos derivados de la región NS42. Uso de antígenos derivados del core3. Uso de péptidos procedentes del core, NS4 y NS5
--

(Alonso,1998).

Entre las técnicas de genotipado del VHC que se han desarrollado, las más sencillas y extendidas son las basadas en la hibridación reversa de los amplificadores obtenidos mediante RT-PCR de la región 5' no codificada. Sobre las tiras de nitrocelulosa han sido fijadas sondas de oligonucleótidos específicos derivados de la región 5' no codificadora del VHC mediante una cola poli-T. Cada tira de nitrocelulosa soporta las sondas correspondientes a los diferentes genotipos y subtipos, de forma que una misma tira permite la identificación completa de los genotipos y subtipos más frecuentes (Liang,2000).

Los amplificadores, previamente marcados con biotina durante la amplificación son incubados con las tiras a 50°C para permitir su hibridación con las sondas fijadas a la nitrocelulosa. Cada amplificador se une a su sonda correspondiente debido a la alta especificidad de la reacción, permitiendo de esta forma llegar a la identificación hasta subtipo. Después de lavar se incuban con estreptavidina conjugada con fosfatasa alcalina a temperatura ambiente.

El desarrollo del color se efectúa mediante la adición de nitroazul de tetrazolio (NBT) y fosfato de bromocloroindol (BCIP). Cada tira dispone de un total de 15 bandas. La primera de ellas es utilizada como control de la adición del conjugado. La segunda contiene una sonda universal que hibrida con los amplicones de cualquier genotipo. Las siguientes 13 bandas permiten la diferenciación de los siguientes genotipos y subtipos del VHC como se observa en la figura 16 siguiendo el esquema de Simmonds y colaboradores (1994): 1,1a,1b,2,2a,2b,3a,3b,4a y 5a (Méndez,2003).



NBT: nitroazul de tetrazolio;
 BCIP: fosfato de 5-bromo-4-cloro-3-indol(substratos para la fosfatasa alcalina)

Figura 16. Esquema de la identificación de genotipos con la prueba de Inno-Lipa HCV (Alonso,1998).

Esta técnica es fácilmente automatizable y permite el estudio simultáneo de varios amplificados obtenidos de diferentes sueros. Además, ayuda a la identificación de infecciones mixtas por varios genotipos siempre que la concentración del genotipo sea como mínimo el 1% del total de amplificados. Sin embargo, es preciso tener en cuenta que algunas de las técnicas de amplificación que utilizan como diana la región 5' no codificante presentan una sensibilidad baja para la detección de algunos genotipos como el 2 y el 3. Además la utilización de ésta región no permite la discriminación entre algunos subtipos como el 2a y el 2c. Por otra parte la concordancia de resultados es próxima al 100% cuando se compara con otras técnicas de genotipado

como la secuenciación de la región 5' no codificante o el análisis de esta región mediante RFLP (Alonso, 1998).

3.3.4 Pruebas de serotipado del VHC

Las pruebas de serotipado aparecieron inicialmente y se diseñaron como alternativa a las pruebas de genotipado dado el elevado costo y la dificultad de la técnica que estas pruebas presentaban en un principio. También se ha propuesto su utilidad para el estudio de la epidemiología de la infección por VHC, especialmente cuando no es posible detectar el RNA viral (muestras inadecuadamente almacenadas o pacientes que han aclarado el virus). Las pruebas de serotipado del VHC se basan en la respuesta serológica tipo específica frente a determinados antígenos correspondientes a regiones del genoma del VHC variables entre genotipos. Así, estudios iniciales realizados por Tsukiyama-Kohara y colaboradores (1993), muestran que existe una respuesta serológica grupo específica correspondiente a lo que denominaron grupos 1 y 2 del VHC, utilizando un antígeno derivado de la zona límite entre las regiones NS3 y NS4.

Los mismos autores no encuentran antígenos grupo específicos usando péptidos derivados del core y de la región NS3. Sin embargo, otros autores, utilizando péptidos sintéticos derivados del core fueron capaces de diferenciar dos tipos serológicos, serotipo 1 correspondiente a los genotipos 1 y 3, y serotipo 2 correspondiente al genotipo 2. No obstante, el grado de divergencia no era suficiente para permitir la diferenciación del serotipo 3 (Alonso,1998).

La región NS4, menos conservada entre genotipos, ha permitido una mejor discriminación de variantes. Tanaka y colaboradores (1994), utilizando un antígeno recombinante derivado de la región NS4, clasifican el VHC en dos grupos (1 y 2). Simmonds y colaboradores (1993), mediante el uso de péptidos sintéticos

correspondientes a dos determinantes antigénicas de la región NS4, distinguen los serotipos 1, 2 y 3. Una mejora posterior de dicha prueba, permitió la diferenciación de los serotipos 1,2,3,4,5 y 6 (Krawitt,1999).

Los serotipos del VHC se pueden estudiar mediante una prueba de ELISA que utiliza péptidos sintéticos derivados de dos determinantes antigénicos de la región NS4a del VHC para diferenciar los anticuerpos frente a los serotipos 1,2,3,4,5 y 6. Para cada muestra se usa una serie de 8 pocillos, cada uno de ellos está revestido con péptidos correspondientes a todos los serotipos (1 al 6). En 6 de los pocillos una dilución 1/20 de la muestra es incubada junto con una solución bloqueante de péptidos (en una concentración 100 veces superior a la usada para revestir los pocillos) correspondientes a 5 de los 6 serotipos con objeto de eliminar la reactividad cruzada entre serotipos.

En otro pocillo la muestra diluida es incubada con una solución bloqueante correspondiente a todos los serotipos (control bloqueado) con la finalidad de detectar reactividades inespecíficas. Por último, en uno de los pocillos la muestra diluida es incubada sin solución bloqueante (control no bloqueado) con objeto de detectar la reactividad total frente a todos los antígenos utilizados. Se considera que están presente anticuerpos frente a un determinado serotipo cuando se cumplen condiciones: a) que la absorbancia del control no bloqueado menos la del control bloqueado sea mayor o igual a 0.1 y b) que la absorbancia del pocillo correspondiente de dicho serotipo dividida por la del control no bloqueado sea mayor o igual a 0.4 (Alonso,1998).

3.3.4.1 Pruebas de genotipado versus serotipado

En la prueba comercial de serotipado basada en la desarrollada por Bhattacharjee y colaboradores (1995), la primera diferencia a destacar es el elevado número de pacientes en los que no se identifica el serotipo con respecto a la prueba de genotipado, lo que sin duda es debido a la dependencia de la respuesta serológica frente a antígenos de la región NS4, la cuál ha probado ser poco sensible en el

diagnóstico serológico de la infección por VHC. La sensibilidad global de la prueba de serotipado varía entre el 90% obtenido por Simmonds y colaboradores (1993) y Bhattacharjee y colaboradores (1995) y el 65% comunicado por Montesano y colaboradores (1996).

En un estudio llevado a cabo recientemente, la sensibilidad global de la prueba de serotipado alcanzó el 76.3%, sensibilidad significativamente inferior a la obtenida en la prueba de genotipado (97.7%). La menor sensibilidad se presentó en aquellos pacientes que tenían genotipo 1a (70.6%) y 1b (77.5%). Por otra parte, Bhattacharjee y colaboradores (1995) describen una menor sensibilidad de la prueba de serotipado para detectar anticuerpos tipo específicos en pacientes infectados por los genotipos 1b y 4 (Liang,2000).

Por otra parte la detección de reactividad frente a serotipos poco frecuentes (serotipos 5 y 6) acompañado de otros serotipos más frecuentes (serotipos 1 y 3) en pacientes con infecciones mixtas, junto con la no detección en ningún caso de los genotipos correspondientes, parece indicar la existencia de una falta de especificidad al menos en determinadas circunstancias.

La prevalencia de los distintos serotipos tanto en el conjunto de los pacientes como dentro de cada factor de riesgo estudiado es muy similar a la observada entre los genotipos correspondientes. Sin embargo, la imposibilidad de distinguir subtipos dentro de cada serotipo constituye una limitación de la pruebas que puede afectar tanto al conocimiento de la epidemiología de las variantes del VHC como su utilidad clínica incapacidad para diferenciar el subtipo 1b, el cuál se ha asociado con una peor respuesta al interferón (Arroyo,1999).

Por el contrario, con la prueba de serotipado se detecta un mayor número de infecciones mixtas (más de un serotipo), actuales o pasadas, que con la prueba de genotipado. Este hecho era de esperar teniendo en cuenta la capacidad de la prueba de serotipado para detectar anticuerpos independientemente si el virus se encuentra en suero o no y de la porción en que esté presente una determinada variante. Se ha descrito una mayor frecuencia de infecciones mixtas en pacientes con riesgo de

múltiples exposiciones al virus (especialmente hemofílicos) (Méndez,2003).

La concordancia entre el genotipado y el serotipado es próxima al 100%, encontrando pocas excepciones. En cambio también se han encontrado niveles de concordancia más bajos y las variables según el genotipo (desde menos del 60% hasta el 100%).

Las discrepancias que se puedan observar entre las pruebas de serotipado y genotipado, pueden explicarse por la infección antigua en un paciente re infectado recientemente por un genotipo diferente. También podrían explicarse por la existencia de determinadas variantes dentro de cada serotipo con un grado de similitud antigénica importante en los péptidos usados en la prueba que impida su diferenciación. La misma explicación sería válida para algunos casos en que se detecta una falsa infección mixta, como por ejemplo, en pacientes con anticuerpos frente a los serotipos 1 y 6 podría tratarse en realidad de una infección por una variante del serotipo 1 que comparte determinantes antigénicos con el serotipo 6 (Krawitt,1999).

Con los péptidos utilizados en la prueba de serotipado se ha descrito un componente de reactividad cruzada además de la tipo específica. El hallazgo de pacientes con anticuerpos frente a NS4 en la prueba de serotipado en los que no se puede determinar el serotipo, pero que presentan reactividad en el pocillo destinado a detectar anticuerpos de cualquiera de los 6 serotipos (control no bloqueado), sugiere el predominio en algunos casos de una respuesta serológica poco específica (reactividad cruzada) sobre la respuesta específica, con el consiguiente bloqueo de los anticuerpos por cualquiera de los péptidos utilizados.

Similar explicación puede justificar los niveles de absorbancia tipo específica más bajos encontrados en el serotipo 4. Bhattacharjee y colaboradores (1995), observan este fenómeno menores niveles de anticuerpos tipo específicos frente a los serotipos 4, 5 y 6 que frente a los tipos 1,2 y 3 y lo atribuyen a la similitud en los serotipos 4,5 y 6 de uno de los antígenos usados en la prueba con lo que los anticuerpos frente a cualquiera de dichos serotipos podrían ser absorbidos por antígenos correspondientes a los dos restantes (Alonso,1998).

3.3.5 Relación de la respuesta serológica con la presencia de RNA-VHC y con el grado de afectación hepática

Las primeras pruebas disponibles para el diagnóstico serológico de la infección por VHC utilizaban un antígeno recombinante (c100-3) que corresponde a casi toda la región NS4 del genoma viral. Dichas pruebas permitieron asociar la mayor parte de las hepatitis noA noB postransfusionales y muchas de las esporádicas con el VHC. Sin embargo, la sensibilidad y la especificidad de estas pruebas de primera generación eran bajas, y los cuadros clínicos asociados a la seropositividad de estas pruebas variaban entre la no afectación hepática y cuadros graves de cirrosis y hepatocarcinoma. El desarrollo de las pruebas de 2ª generación y posteriormente de 3ª generación, mejoró la sensibilidad y especificidad de las pruebas al incorporar epítopes de origen estructural y no estructural. Sin embargo, aún a pesar de estos importantes avances, siguen planteándose algunos problemas de especificidad, algunos autores encuentran valores predictivos positivos de sólo el 50% en donantes de sangre. Esto quiere decir que existe la posibilidad de que algunos portadores del VHC no sean detectados mediante las pruebas serológicas, esto es, existen personas seronegativas que presentan RNA VHC en sangre (Méndez,2003).

La correlación encontrada entre el resultado de las pruebas anti-VHC y la detección de RNA-VHC varía según los autores. Reuter y colaboradores (1995), encuentran una correlación mayor del 97% entre la detección de anti-VHC mediante una prueba de 2ª generación y la presencia de RNA de VHC. Sin embargo, Brown y colaboradores (1993) en pacientes con enfermedad hepática diagnosticada encuentran RNA-VHC en sólo el 60% de los casos con anti-VHC. Echevarría y colaboradores (1995) en donantes de sangre encuentran un porcentaje inferior (46%) (Krawitt,1999).

Estas diferencias son debidas a distintos grupos de población estudiados por los diferentes autores. En los casos de hepatitis aguda autolimitada en el estadio precoz de la infección la presencia de RNA-VHC no se acompaña de la presencia de anticuerpos ni de signos ni síntomas de afectación hepática. Por el contrario, una vez

resuelta la enfermedad, hecho que sucede en un 20-30% de los casos, sólo persiste el recuerdo serológico, no detectándose RNA-VHC ni actividad hepática. Además desde el punto de vista serológico no existe asociación entre la presencia de anticuerpos frente a las diferentes proteínas víricas y las distintas fases de la enfermedad ni con su grado de actividad, aunque en algunos casos se ha observado que los anticuerpos frente al VHC pueden desaparecer con la resolución de la enfermedad (Liang,2000).

En los pacientes con evolución crónica después de la fase aguda, la actividad hepática puede ser muy variable según los pacientes. Las transaminasas pueden fluctuar siendo frecuente que la normalización de los niveles de transaminasas se correspondan con niveles bajos o negativizaciones temporales del RNA-VHC sérico. En cambio, no existe asociación entre el patrón de respuesta serológica con los niveles de ALT ni con el tipo de lesión histológica hepática. Todo sugiere que la respuesta serológica frente a distintos antígenos del VHC dista mucho de ser realmente útil como marcador en la evolución clínica de la enfermedad (Alonso,1998).

3.3.6 Relación entre la presencia de IgM-VHC, RNA-VHC y afectación hepática

En gran parte de los procesos infecciosos los anticuerpos de clase IgM indican una infección en la fase aguda o reciente. Sin embargo, en el caso de la hepatitis C la presencia de IgM específica frente a antígenos del VHC resulta controvertida. Diferentes autores han encontrado una asociación entre la presencia de anticuerpos IgM frente al core del VHC (IgM-VHC) con la persistencia de RNA viral (marcador de infección por el VHC) y con la actividad de la enfermedad hepática. Brillanti y colaboradores (1993) proponen la detección de IgM-VHC como un buen marcador de la actividad de la enfermedad tanto en la fase aguda como en la crónica, existiendo una buena correlación entre el título de IgM-VHC y los parámetros bioquímicos de la enfermedad hepática (Gamboa,2000).

Hellström y colaboradores (1993), encuentran una fuerte asociación entre la detección de anticuerpos IgM-VHC y la presencia de RNA del VHC en suero. Por el contrario,

Akbar y colaboradores (1993) no encuentran correlación entre el título de IgM-VHC y la actividad o duración de la enfermedad y Zaijier y colaboradores (1993) observan que la respuesta de anticuerpos IgM-VHC es altamente variable, pudiendo estar ausente, aparecer tardíamente o persistir después de la infección por VHC. Así mismo estos autores, tampoco encuentran correlación entre la detección de IgM-VHC y la presencia de RNA VHC (Alonso,1998).

La detección de anticuerpos IgM-VHC es de escaso valor cuando se trata de predecir un estado de infección actual por el VHC. No se ha encontrado asociación estadísticamente significativa entre la presencia de IgM-VHC y niveles patológicos de ALT (40.6% con IgM y ALT elevadas frente al 39.6% con IgM-VHC negativas y ALT elevadas). Tampoco se ha encontrado ninguna asociación entre la presencia de IgM-VHC y los diferentes cuadros anatomopatológicos. Menos del 50% de los pacientes con RNA de VHC detectable en suero presentaban IgM-VHC, lo cuál contrasta con el 70% encontrado por Hellstron y colaboradores (1993) (Méndez,2003).

3.3.7 Relación de los genotipos con el cuadro clínico hepático

Se piensa que la persistencia de la infección por VHC, en forma quiescente o activa, ocurre en la mayoría de los pacientes, cursando en muchos casos (50-60%) en forma de hepatitis crónica. El hallazgo de la diversidad genética del VHC dio lugar a la hipótesis de que la mayor o menor severidad de los cuadros clínicos y su evolución podría estar relacionada con determinados genotipos. Los estudios efectuados hasta la fecha no son concluyentes. McOmish y colaboradores (1993), encuentran una mayor frecuencia de anomalías de la función hepática en los pacientes infectados con el tipo 3 que los infectados con el tipo 1 y 2, si bien dudan del verdadero significado patogénico de este hecho (Gamboa,2000).

Dusheiko y colaboradores (1994), no encuentran diferencias en los niveles de aminotransferasas entre los genotipos 1,2,3 y 4 pero sugieren la asociación del genotipo 1 con lesiones histológicas más severas del hígado. Pozzato y colaboradores (1993), en Italia y Francia, encuentran el genotipo 1b más frecuentemente asociado

con cirrosis hepática. Takada y colaboradores (1993) encuentran, en muestras procedentes de España, más frecuentemente el genotipo 1b en pacientes con carcinoma hepatocelular que en pacientes sin cáncer, aunque el número de muestras examinadas fue pequeño.

En otro estudio Takada y colaboradores (1992), no encuentran diferencias clínicas entre los genotipos 1 y 2. Yamada y colaboradores (1994), tras estudiar las lesiones histológicas hepáticas en 251 pacientes japoneses, sugieren que es poco probable la relación entre genotipos del VHC y la severidad de la enfermedad hepática. Tampoco Pontisso y colaboradores (1993) encuentran diferencias entre los genotipos 1 y 2 en la duración de la enfermedad y los niveles de ALT (Alonso,1998).

En conjunto, la hepatitis crónica persistente y la hepatitis crónica activa son las lesiones más frecuentes seguidas de la cirrosis. La hepatitis crónica activa es más frecuente, seguida de la cirrosis en las que es un hecho que la edad avanzada como la duración de la infección se asocian con la progresión de la enfermedad hacia la cirrosis. En general, el genotipo 1b ha sido encontrado por la mayoría de los autores con más frecuencia que otros genotipos en los pacientes con lesiones histológicas más graves (especialmente cirrosis y carcinoma hepatocelular). Es preciso tener en cuenta que el genotipo 1b es el prevalente en las áreas donde se han realizado los diferentes estudios. Por tanto, dos factores (edad y genotipo 1b) entre otros parecen estar asociados muy estrechamente con la progresión hacia la cirrosis, por lo que la coincidencia de ambos factores en la mayoría de los pacientes dificulta la valoración de la influencia de cada uno de ellos en particular (Gamboa,2000).

3.3.8 Relación entre la respuesta serológica y el genotipo del VHC

Un problema que ha preocupado especialmente es el posible efecto de la heterogeneidad del VHC en el diagnóstico serológico de la infección. Todas las pruebas disponibles actualmente para la detección de anticuerpos utilizan antígenos derivados del genotipo 1, lo que podría plantear problemas para detectar infecciones por otros genotipos.

El grado de diversidad genética del VHC es variable según la región genómica considerada, encontrándose distintos grados de especificidad de la respuesta serológica según los genotipos. Así los ensayos de primera generación que utilizaban la proteína recombinante c100-3 (procede de la región NS4 del genoma), fallaban con frecuencia en detectar infecciones por genotipos distintos al 1. Stuyver y colaboradores (1993) encuentran una respuesta serológica intensa frente a un péptido sintético derivado de la región NS4a del genotipo 3 en pacientes infectados por dicho genotipo, los cuales habían sido negativos para anticuerpos anti-NS4 en ensayos convencionales. Simmonds y colaboradores (1993) encuentran un alto componente de respuesta serológica tipo específica, con una débil reactividad cruzada, frente a dos epítopes inmunodominantes de la región NS4, lo cuál les permitió desarrollar una prueba para diferenciar serológicamente los tipos 1, 2 y 3 (Krawitt,1999).

Houghton y colaboradores (1991) informan que el antígeno c100-3 derivado de la variante VHC-1 (genotipo 1 a) es altamente eficiente para detectar infecciones por los grupos I (en el que se incluyen variantes del genotipo 1a) y II (el cual incluye variantes del genotipo 1b.) También ha sido encontrado por algunos autores un déficit de reactividad cruzada frente antígenos derivados de la región NS3, NS5 y envoltura. Para el caso de antígenos derivados de la cápside la reactividad parece más universal, aunque Machida y colaboradores (1991) distinguen dos subtipos del VHC basándose en diferencias antigénicas de dicha región (Alonso,1998).

4. 0 EPIDEMIOLOGIA Y CONTROL DE LA HEPATITIS C

4.1 Epidemiología del virus de la hepatitis C

La hepatitis noA noB es bien conocida desde muchos años antes que su agente responsable, destacando su asociación con las transfusiones sanguíneas y su tendencia a la cronicidad.

A nivel mundial se estima que existen más de 170 millones de personas infectadas de forma crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) lo que representa alrededor del 3 por ciento de la población mundial, a la vez que se producen de tres a cuatro millones de nuevos infectados cada año. La situación epidemiológica varía mucho de unos países a otros, en función, sobre todo, de su nivel de desarrollo socioeconómico. En los Estados Unidos se estima que el número de portadores es de 2.7 millones de personas. En Francia el número de portadores se estima en 600,000, en Italia se aportan cifras de 1,500,000 de personas afectadas.

En España, algunos estudios realizados de base poblacional aportan tasas de prevalencia del 12.67% de la población, lo que supone de 400,000 a 1,000,000 personas infectadas. Las cifras se elevan considerablemente en países de África subsahariana y Egipto, en donde se han comunicado prevalencias de infección superiores al 15% de la población. Desafortunadamente, es muy difícil conocer las tasas de incidencia real de la enfermedad, dado que puede permanecer largo tiempo asintomática, pasando inadvertida y no comunicándose de forma adecuada los nuevos casos (Abdo,2003). En la figura 17 se ubica la prevalencia de la enfermedad a nivel mundial en términos de porcentaje.

Hepatitis C 2.003

Fuente OMS 2003

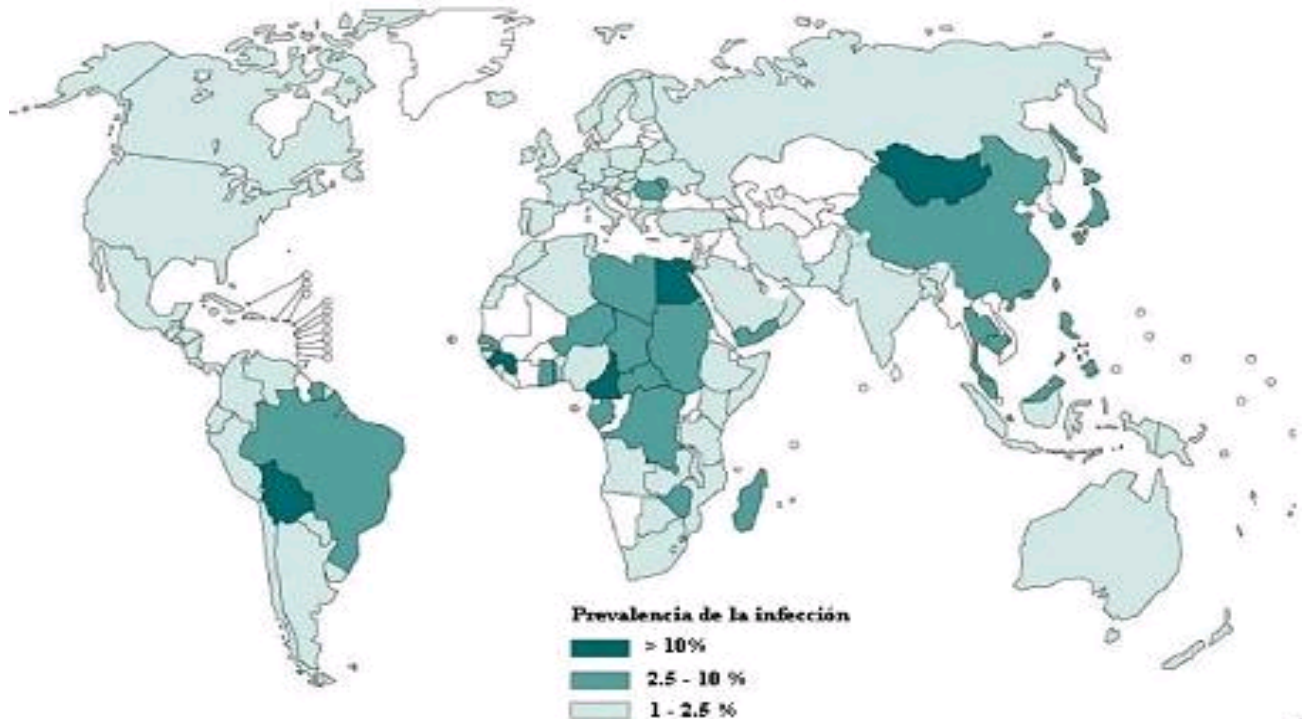


Figura 17. Distribución mundial de la prevalencia de hepatitis C (hepatitisc2000.com)

En cuanto a la distribución por edades, en España se observan mayores tasas de prevalencia en pacientes mayores de 65 años que en pacientes más jóvenes, sin embargo la prevalencia en personas entre 25-30 años observada en algunos estudios llega hasta el 2 por ciento, lo que indica que la progresión de la enfermedad está lejos de estar totalmente controlada.

Alrededor de 4 millones de estadounidenses tienen el virus de Hepatitis C (VHC). En los Estados Unidos, aproximadamente 1 de cada 50 latinos está infectado con el VHC, y para el 2025 se espera que se duplique la población hispana (Liang,2000).

4.1.1 Distribución mundial de los genotipos

El VHC esta clasificado en base a la secuencia genómica en 6 genotipos (1-6) y aproximadamente en 6 subtipos (a,b,c,etc.). Los genotipos del 1 al 3 son de distribución mundial, los subtipos 1a, 1b, 2a, 2b y 3a, representan la mayoría de los subtipos en el norte y sur de América, Australia, oeste de Europa y Japón, como se aprecia en la tabla 7. Áreas endémicas del genotipo 1 y 2 son específicos fundamentalmente en el oeste de África, en el oeste de África el tipo 4, en la India el tipo 3, en África central el tipo 4 y en el sureste de Asia el tipo 6. No existe un área endémica del genotipo 5 (Liang, 2000).

Tabla 7. Distribución geográfica de los genotipos de VHC

Genotipo	Países
1a	Holanda, Hungría, Italia, España, Alemania, USA, Brasil, Australia, Malasia, Tailandia.
1b	Holanda, Hungría, Italia, España, Alemania, Francia, Rusia, USA, Brasil, Argentina, Australia, China, Japón, Taiwán.
1c	Líbano
2a	Escocia, España, USA, China, Japón, Taiwán.
2b	Escocia, USA, China, Japón, Taiwán
2c	Escocia, Italia, Argentina.
3a	Escocia, Italia, Finlandia, Italia, España, Alemania, Suecia, USA, Malasia, Tailandia, Nepal, Singapur.
3b	Tailandia, Nepal.
4a	Italia, España, Grecia, Egipto, Zaire.
5b	Republica de Sudáfrica
6a	Hong-Kong, Macao, Vietnam.

(Alonso, 1998).

4.2 Situación en México

Si bien la hepatitis noA noB se ha reconocido mejor en asociación con transfusión de sangre y hemoderivados, debe admitirse que la mayoría de los casos ocurren sin exposición manifiesta de la sangre. Muchos de los aspectos epidemiológicos de la hepatitis C se asemejan a los de la hepatitis B. Se han demostrado infecciones crónicas y también hay un estado de portador crónico en personas con manifestación escasa o nula que permite la transmisión del virus por medio de estos donadores aparentemente sanos (ssa.gob).

En México las enfermedades hepáticas ocupan el tercer lugar de mortalidad y la hepatitis se considera ahora un problema importante de salud nacional, sobre todo por la cronicidad que se desarrolla, y en esto la hepatitis C tiene un papel importante.

Observando los datos epidemiológicos del año 2002 por grupos de edad, la mayor incidencia de hepatitis viral tipo C, se encuentra, en 25-44 años con 597 casos, con mayor número de casos está Baja California Norte 103 casos, esto explica que la infección aparece, en la mayoría de los casos después de una transfusión, o por vía sexual, en segundo lugar de la incidencia se encuentra el grupo de edad de 50 a 59 años con 222 casos, lo que también podría confirmar que después de varios años se presenta la sintomatología y se hace manifiesta la enfermedad.

Según el boletín epidemiológico, en el año 2003 se encontraron un total de 19,942 casos de hepatitis virales y en 2002 fueron 19,614 casos en total. En éstos se incluyen la hepatitis A y la C (dgepi.salud.gob).

Los datos de hepatitis viral tipo C por grupo de edad la mayor incidencia a nivel nacional en el año 2003 se encuentra en la edad de 60-64 años con una tasa global de 3.84, la tasa global son cada 100 000 habitantes. Seguido por el grupo de 50-59 años, lo que muestra que la enfermedad se presenta en edades tardías después de un periodo de incubación largo, y con mayor prevalencia en el estado de Baja California Norte seguido por el estado de Chihuahua.

Considerando sólo la población femenina del país, el grupo de edad con mayor incidencia es el de 50-59 años con una tasa global de 157, seguido de la edad de

25-44 años y la entidad federativa con mayor número de casos es el Distrito Federal, seguido del Estado de México con 69 casos (dgepi.salud.gob).

En cuanto a la población masculina, el grupo de edad de mayor incidencia se presenta en 45-49 años, con una tasa de 3.14, seguido de la edad de 60-64 años. Y la entidad federativa de mayor prevalencia es el estado de Baja California, seguido por el estado de Chihuahua (dgepi.salud.gob).

De los casos de enfermedades registradas en el año 2003, de ambos géneros, la hepatitis C, tuvo un total de 1382 casos reportados, estas notificaciones fueron :

SSA	388
IMSS	577
ISSSTE	173
IMSS/OP	13
DIF	5
PEMEX	14
SEDENA	4
SEDEMA	0
R	
OTRAS	208
TOTAL	138
	1

En el año 2003 los casos de hepatitis C aguda de mayor incidencia se encuentran en el grupo de edad de 25-44 años, seguido del grupo de edad de 50-59 años y la entidad federativa con mayor número de casos es el Distrito Federal con 250 casos, en ambos géneros, seguido de Baja California con 197 casos y Chihuahua con 125 casos. Los meses en los que más casos se presentaron fueron junio y julio con 161 y 136 casos respectivamente.

Como se puede observar en la tabla 8, el número de defunciones causada por el virus de la hepatitis C, se ha ido incrementando cada año, y las mujeres son las más afectadas por esta enfermedad. Del año 2002 a 2003 no fue muy significativo el aumento y disminuyó en los varones (dgepi.salud.gob).

Tabla 8. Número de defunciones por hepatitis C

Año	Hombres	Mujeres	Total
2000	99	218	317
2001	124	290	414
2002	162	343	505
2003	151	359	510

(INEGI).

4.3 FORMAS DE TRANSMISIÓN

La hepatitis C es un grave problema de salud en México y en todo el mundo, en los

últimos años se ha incrementado a tal grado que el porcentaje de portadores es cuatro veces mayor al de infectados con el VIH. Existen diversas maneras de transmisión del VHC al organismo, el principal mecanismo es por vía parenteral, el grupo de mayor riesgo de contraer la enfermedad en los países desarrollados son los adictos a drogas por vía parenteral (ADVP). La transmisión a través de transfusiones llega a ocurrir a pesar de la drástica disminución a partir de la introducción de las pruebas de monitoreo para anti-VHC en donantes de sangre. De cualquier manera existen varios mecanismos por los cuales una persona corre el riesgo de infectarse del VHC entre los cuales están los siguientes:

4.3.1 Parenteral

4.3.1.1 Postransfusional. El VHC es el virus de las hepatitis después de las transfusiones. La sustitución de las donaciones remuneradas y la introducción en los bancos de sangre de métodos diagnósticos adecuados ha reducido el riesgo de transmisión a tasas de 0.001 por ciento por unidad transfundida, lo que significa que actualmente prácticamente no existen nuevos casos de hepatitis C postransfusional. Los hemofílicos, talasémicos y pacientes con hipogammaglobulinemia son colectivos con elevada prevalencia de anti-VHC al haber recibido tratamientos sustitutivos con derivados hemáticos (Arroyo,1999).

4.3.1.2 Hemodiálisis. Programas de hemodiálisis han hecho que pacientes con insuficiencia renal crónica presenten cifras altas de prevalencia de infección por VHC.

4.3.1.3 Usuarios de drogas por vía parenteral (UDVP). Son actualmente el principal mecanismo de transmisión del VHC, con cifras de prevalencia entre el 50-100 por ciento, dependiendo del tiempo de inicio de la adicción. Constituye la primera causa de infección en adultos jóvenes. Ésta se adquiere habitualmente al compartir jeringas y en los seis primeros meses de conducta adictiva. Hay estudios que señalan que el consumo intranasal de cocaína constituye una actividad de riesgo de infección posiblemente al compartir material utilizado y debido a la existencia de erosiones nasales (Arroyo,2001).

4.3.1.4 Trasplante de órganos. La transmisión del VHC en trasplante de órganos está

bien documentada a través de estudios retrospectivos. Se han encontrado prevalencias de anti-VHC de hasta el 96% en receptores de donantes anti-VHC positivos, aún cuando la supervivencia y las tasas de rechazo no sufren variaciones a los 5 años (Abdo,2003).

4.3.1.5 Personal laboral sanitario. El riesgo de infección tras punción accidental del personal laboral sanitario con material contaminado es bajo, el riesgo se ha considerado globalmente del 1%, cifra baja y acorde con el hallazgo de una prevalencia muy similar en el personal sanitario que en la población general.

4.3.1.6 Tatuajes y transgresiones cutáneas. Los tatuajes y las perforaciones podrían potencialmente ser mecanismos de transmisión del VHC si no se realizan en condiciones sanitarias adecuadas. Otros factores como la realización de manicure, uso de navajas de afeitar, el compartir cepillos de dientes u otros procedimientos cosméticos son potenciales mecanismos de transmisión (Méndez,2003).

4.3.2 No parenteral

Sólo la mitad de los pacientes con infección crónica por el VHC o de los donantes voluntarios de sangre VHC positivos reconocen antecedentes de posible adquisición parenteral, por tanto existen otras vías, llamadas esporádicas.

4.3.2.1 Transmisión sexual. Existen estudios que muestran bajas tasas de infección por VHC en grupos de población con prácticas de riesgo en sus relaciones sexuales, como prostitutas, homosexuales promiscuos y pacientes a los que se les ha diagnosticado alguna enfermedad de transmisión sexual. El virus de la hepatitis C se ha detectado en el semen y/o en los fluidos vaginales en baja cantidad para el contagio, por lo que el riesgo de transmisión sexual del VHC es muy pequeño (2 al 4%). La transmisión en parejas estables se ha situado como menor del 5%, lo cual demuestra que la transmisión por esta vía es posible, pero muy baja.

Se calcula que el riesgo de que una persona se infecte manteniendo relaciones sexuales sin protección con una sola pareja infectada con el VHC es del 2.5% después

de 20 años de relación. Según algunos estudios la transmisión sexual de hombre a mujer podría ser más fácil que la de mujer a hombre. El riesgo de contagio es mayor durante el período menstrual, dado que el VHC se contagia fundamentalmente por la sangre, el sexo anal es más peligroso y las úlceras genitales pueden aumentar el riesgo de transmisión del VHC. El sexo oral no representa riesgo excepto si existen úlceras en la boca o sangrado por encías (Abdo,2003).

4.3.2.2 Transmisión intrafamiliar. El contacto doméstico con pacientes infectados se ha incluido como causa de transmisión del VHC. Las familias de estos pacientes muestran con frecuencia tasas de anticuerpos para el VHC mayores que en la población general, explicándose quizás por compartir cepillos de dientes, máquinas de afeitar, etc. No existen pruebas concluyentes de transmisión en el hogar a través de actividades en las que no haya contacto sanguíneo.

4.3.2.3 Transmisión vertical madre-hijo. Ocurre en menos del 6 por ciento de los niños nacidos de madres infectadas por VHC. No parece influir el que el parto sea por vía natural o mediante cesárea y no está demostrado que la alimentación por leche materna sea una vía de infección en este grupo de pacientes. No existe contraindicación para el embarazo en mujeres infectadas por el VHC. El VHC no se ha encontrado en la leche materna.

La prevalencia de infección C es relativamente baja en la infancia, situándose entre el 0.1 y el 0.4% en los países occidentales.

4.3.2.4 Cocaína inhalada. En Argentina, según una investigación, una de cada cinco personas que inhalan cocaína está infectada con el HIV, el virus de la hepatitis B, el de la hepatitis C o sífilis. El uso compartido de canutos o pipas para inhalar clorhidrato de cocaína, crack o pasta base puede ser un vehículo para la transmisión del virus del sida y de la hepatitis C, ya que las mucosas de la nariz pueden sangrar. Una conducta de riesgo asociada al consumo de drogas inhalables es el sexo inseguro. Algunas personas bajo el efecto de las drogas, tienen mayor vulnerabilidad; a las relaciones sexuales sin protección que presentan un riesgo mayor de contagio (Arroyo,1999).

4.3.3 Grupos de riesgo

Todas las personas tenemos en algún momento ciertos factores de riesgo asociados a contraer la enfermedad que generalmente son circunstanciales o accidentales, sin embargo, sólo ciertos grupos tienen una mayor propensión a la posibilidad de contraer la enfermedad como pueden ser:

- Todas las personas que recibieron una transfusión de sangre o hemoderivados o un trasplante de órgano, principalmente si fue antes del año 1992.
- Trabajadores de las áreas donde sea posible el contacto eventual o directo con sangre, como enfermeras, médicos, paramédicos, dentistas, bioquímicos, etc.
- Personas que tengan signos o síntomas de la enfermedad, por ejemplo enzimas ASAT y ALAT por encima de lo normal.
- Pacientes que se hacen o hicieron hemodiálisis, hemofílicos.
- Personas con tatuajes o perforaciones.
- Personas que se inyectaron o aspiraron drogas, aunque sea una sola vez en su vida.
- Familiares de portadores de hepatitis C .
- Personas con múltiples parejas sexuales o comportamientos sexuales de riesgo (www.hepatitisc2000.com.ar).

4.4 TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR VIRUS DE LA HEPATITIS C

4.4.1 Tratamiento de la hepatitis C crónica

La hepatitis C es la causa más frecuente de hepatitis crónica en el mundo. Se calcula que aproximadamente 5 millones de personas están infectadas en la Unión Europea. De ellas, aproximadamente un 70 por ciento presentan una hepatitis crónica y entre un 15 y un 20 por ciento una cirrosis hepática. La hepatitis crónica C es de forma

característica, una enfermedad con escasa expresividad clínica, solo en estadios avanzados pueden presentarse las manifestaciones propias de la enfermedad en forma de descompensación de la cirrosis ó hepatocarcinoma.

El tratamiento de la hepatitis crónica C va dirigido a erradicar la infección vírica y por lo tanto a mejorar las lesiones hepáticas y a evitar la progresión de la enfermedad. Por lo tanto, el tratamiento estaría indicado en aquellos pacientes que presentan transaminasas elevadas, positividad de los anticuerpos anti-VHC y del RNA del VHC en el suero y lesiones de hepatitis crónica en la biopsia hepática. Son por lo tanto, los pacientes que tienen más riesgo de desarrollar una enfermedad hepática progresiva y evolucionar a una cirrosis hepática (Ceredo,2000).

Durante la década pasada el único fármaco disponible para el tratamiento de la hepatitis crónica C era el interferón alfa. Los resultados de la terapia con interferón alfa eran pobres, de manera que sólo entre el 15-20 por ciento de los pacientes tratados durante un año negativizaban el RNA-VHC ó sea, presentaban una respuesta virológica mantenida.

Aproximadamente un 25 por ciento de los pacientes tratados respondían de forma transitoria, recidivando la enfermedad al suspender el tratamiento y la mayoría, un 50 por ciento no respondían al tratamiento. La introducción de ribavirina combinada con interferón ha mejorado sustancialmente los resultados del tratamiento de la hepatitis crónica C incrementando la respuesta virológica sostenida y mas recientemente, la introducción de los interferones pegilados con una vida media más prolongada y de administración semanal han conseguido que más del 50 por ciento de los pacientes tratados erradiquen la infección por virus de la hepatitis C (Gamboa,2000).

4.4.2 Tratamiento actual de la hepatitis C crónica

El tratamiento actual de la hepatitis crónica C es la combinación de interferón pegilado y ribavirina. La pegilación es un proceso que consiste en la unión de una sustancia inerte, el polietilenglicol al interferón dando lugar a una molécula de mayor peso

molecular. El interferón pegilado (Peginterferón) se caracteriza por tener una vida media más prolongada que el interferón recombinante. La unión de polietilenglicol a proteínas es un método ya utilizado con otros fármacos para retrasar su aclaramiento, prolongar su actividad y en consecuencia, mejorar su eficacia (Rodés,1993).

El Peginterferón es un compuesto muy estable, y tras su administración por vía subcutánea, se produce una liberación rápida de interferón y un lento aclaramiento con lo cual sus niveles son persistentes y mantenidos durante al menos 140 horas, posteriormente de forma gradual se va eliminado. Esto contrasta con los picos obtenidos con la administración de interferón alfa por vía subcutánea tres veces por semana, que produce niveles elevados durante las primeras 12 horas con una ulterior caída rápida en las siguientes 12 horas. Esta farmacocinética favorable permite la administración de Peginterferón una vez por semana, manteniendo su efecto durante todo este periodo de tiempo. Además ofrece las ventajas de una mayor comodidad para el paciente y un mejor cumplimiento del tratamiento.

Existen dos tipos de Peginterferón alfa: el Peginterferón alfa 2a y el alfa 2b. Los dos poseen propiedades físico-químicas diferentes. En ambos casos, la molécula original de interferón recombinante ha sido pegilada y el resultado ha sido la obtención de un producto que puede administrarse una vez por semana. El Peginterferón alfa 2b esta formado por una molécula lineal de polietilenglicol unido a una molécula de interferón, su configuración es lineal y el peso molecular de 12 KDa. Alrededor del 50 por ciento de las moléculas de Peg están unidas a histidina 34. La vida media de absorción es de 4-6 horas, la concentración máxima se alcanza entre 48-72 horas y se elimina a nivel renal siendo la vida media de eliminación de 40 horas. El Peginterferón alfa 2a está constituido por una molécula ramificada de polietilenglicol unidas mediante enlaces covalentes a la lisina del interferón alfa 2a, siendo el peso molecular medio de 40 KDa. La vida media sérica del interferón alfa 2a unido al Peg se prolonga en 10 veces. La dosis es distinta según el tipo de interferón pegilado. El interferón alfa-2b se administra según el peso corporal siendo la dosis recomendada de 1.5 mcg/kg de peso por semana mientras que la dosis de interferón pegilado alfa 2a es fija, de 180 mcg por semana (Rodés,1993).

La ribavirina se administra por vía oral, dependiendo del peso corporal (1000 mg para sujetos < 75 Kg y 1200 mg para sujetos de 75 Kg. La duración del tratamiento depende de una serie de factores predictivos de respuesta siendo el más importante el genotipo viral. A los pacientes infectados por genotipo 1 se recomienda tratarlos durante 48 semanas mientras que aquellos infectados por genotipo 2 y 3 durante 24 semanas. Los pacientes infectados por otros genotipos, 4, 5, 6 o no tipificables no existe todavía suficiente información, por lo que se recomienda tratarlos durante 48 semanas como si estuvieran infectados por genotipo 1. Tanto el interferón como la ribavirina son dos medicamentos que trabajan en conjunto, las monoterapias con cualquiera de estas dos drogas no han resultado eficaces (Abdo,2003).

Se ha demostrado un incremento significativo con respuesta global de casi 50%. En casos de infección por virus C, con genotipo 1, 3 o 4 la eficacia puede ser de hasta 80% Cuando el genotipo es de la variedad 1, el tratamiento debe durar 12 meses. Cuando el genotipo es 2, 3 y 4 el tratamiento puede ser de sólo 6 meses. Se considera que todos los pacientes deben continuar con sus visitas médicas de por vida. A los 6 meses de haber suspendido el tratamiento debe repetirse la medición de la carga viral con el fin de certificar que se ha logrado una erradicación sostenida o definitiva del virus C (Arroyo,1999).

En pacientes "naive" (no tratados previamente), el tratamiento combinado con interferón pegilado y ribavirina consigue una respuesta virológica sostenida global del 55%, independientemente del tipo de interferón pegilado utilizado. Los pacientes con infección por genotipo 1 presentan una respuesta virológica sostenida de aproximadamente el 40% y los pacientes con infección por genotipo 2 ó 3, la respuesta es del 80%. Otros factores como la carga viral, el género, la edad del paciente, el peso corporal y el grado de lesión histológica juegan un papel menos importante.

Las indicaciones de tratamiento de la hepatitis crónica C en nuestro país son básicamente dos, primero, los pacientes con hepatitis crónica activa o cirrosis hepática con transaminasas elevadas no tratados previamente con interferón, y los pacientes con hepatitis crónica C con respuesta y recidiva después del tratamiento con interferón. En los pacientes no respondedores a un tratamiento previo con interferón, el

tratamiento combinado no está aprobado (Arroyo,2001).

El tratamiento no está indicado en pacientes con valores persistentemente normales de transaminasas y hepatitis crónica C y ni tampoco en los pacientes con cirrosis hepática descompensada ó alteraciones de los parámetros de síntesis hepática. Antes de iniciar el tratamiento se requiere que los valores de hemoglobina sean superiores a 12 gr/dl para las mujeres y 13 gr/dl para los varones, el recuento de leucocitos superior a 3,000/mm³, el numero de neutrofilos superior a 1,500 y valores de plaquetas superiores 80,000/mm³. Es importante seleccionar para el tratamiento a los pacientes con enfermedad hepática compensada. Es importante que tanto las mujeres como los varones no conciban hijos durante el tiempo de tratamiento y 6 meses después.

El tratamiento está contraindicado en pacientes con indicios de enfermedad hepática avanzada, ascitis, várices esofágicas ó encefalopatía hepática, también en pacientes con enfermedad siquiátrica previa, especialmente depresión moderada o antecedentes de trastornos psiquiátrico, ideas suicidas o intentos previos de suicidio, trastornos convulsivos o crisis epilépticas, antecedentes de cardiopatía isquémica o enfermedad cardiovascular importante y en pacientes con enfermedades de origen inmunológico como la hepatitis autoinmune, el lupus eritematoso sistémico, la artritis reumatoide, etc. El tratamiento en sujetos de más de 65 años no está ensayado ampliamente y no se dispone de resultados de eficacia aunque probablemente ésta sea inferior que en los sujetos de menor edad (Bacon,2000).

La respuesta al tratamiento se define atendiendo a criterios bioquímicos (normalización de las transaminasas), criterios virológicos (negativización del RNA-VHC) y criterios histológicos (mejoría en el índice de actividad inflamatorio hepático). La manifestación más utilizada es la virológica y debe medirse al final del tratamiento y posteriormente a los 6 meses de acabarlo, lo que se conoce como respuesta virológica sostenida. Se sabe que en los pacientes que presentan un dicho resultado, éste es duradero más de 10 años como mínimo (Arroyo,2001).

4.4.2.1 Factores predictivos de respuesta

Existen una serie de factores predictivos de respuesta al tratamiento que pueden dividirse en dos apartados: factores predictivos basales y factores predictivos durante el tratamiento.

Dentro de los factores basales, el más importante es el genotipo viral. Los pacientes con genotipo 1 presentan una respuesta más baja al tratamiento, de alrededor del 40% utilizando peginterferón y ribavirina durante 48 semanas mientras que en los pacientes con infección por genotipo 2 ó 3, la respuesta al tratamiento combinado durante 24 ó 48 semanas es la misma, de aproximadamente 80%. Además, en los pacientes infectados por genotipo 2 ó 3, se puede utilizar una dosis de ribavirina más baja de 800 mg al día, dado que estos pacientes responden de forma similar tanto si se utilizan dosis de 1000 a 1200 mg ó 800 mg de ribavirina, por lo que se aconseja tratarlos con 800 mg.

En los pacientes infectados por genotipo 1, especialmente si presentan una elevada carga viral, la respuesta virológica sostenida es inferior y deben ser tratados durante 48 semanas con dosis de ribavirina ajustadas al peso corporal. Otros factores basales capaces de predecir la respuesta sostenida son la carga viral, el grado de lesión histológica, el género y el peso corporal (Bacon,2000).

La cuantificación del RNA se realiza mediante técnicas de PCR, la mayoría de ellas comerciales. Se ha observado que aquellos pacientes con cargas virales superiores a 2,000,000 copias/ml u 800.000 UI/ml presentan una peor respuesta al tratamiento que aquellos con cargas virales más bajas. El problema principal de la cuantificación del RNA-VHC reside en las técnicas para su determinación que no están todavía bien estandarizadas y ofrecen resultados distintos, incluso en unidades diferentes dependiendo de la prueba, lo que dificulta la comparación e interpretación de los resultados. Es importante estandarizar estas determinaciones para su uso clínico (Arroyo,1999).

Los pacientes con lesiones de cirrosis hepática también presentan un porcentaje más bajo de respuesta virológica sostenida. Otros factores relacionados con la respuesta son el género, las mujeres responden mejor que los varones, los pacientes con bajo

peso corporal también presentan un porcentaje más elevado de respuesta sostenida así como aquellos pacientes con una menor duración de la infección.

Durante el tratamiento, los factores predictivos de respuesta son la negativización precoz ó la caída rápida de las concentraciones del RNA-VHC y la adherencia ó cumplimiento del tratamiento. La mayoría de los pacientes que consiguen una respuesta sostenida al tratamiento combinado normalizan las transaminasas y negativizan el RNA-VHC durante las primeras 24 semanas. Más recientemente se ha comprobado que la caída en las concentraciones de RNA-VHC de más de 2 logaritmos durante las primeras 12 semanas de tratamiento es un factor predictivo de respuesta virológica sostenida, especialmente para los pacientes más difíciles de tratar, los infectados por genotipo 1 (Rodés,1993).

El valor predictivo negativo de esta determinación es del 100%, es decir aquellos pacientes que no alcancen una caída en las concentraciones del RNA-VHC superiores a 2 logaritmos durante las 12 primeras semanas del tratamiento difícilmente van a presentar una respuesta virológica sostenida. Por ello se recomienda a estos pacientes suspender el tratamiento. El valor predictivo positivo de la determinación del RNA-VHC a las 12 semanas de tratamiento es inferior, alrededor del 80%, ello significa que algunos enfermos a pesar de negativizar rápidamente el RNA-VHC no van a presentar una respuesta virológica sostenida (Abdo,2003).

Otro factor importante durante el tratamiento y asociado a la respuesta virológica sostenida es el cumplimiento del mismo. La realización y cumplimiento del tratamiento es en ocasiones difícil debido a los efectos adversos o a la mala tolerancia de ambos fármacos, y a menudo es necesario reducir las dosis de los fármacos ó más raramente suspender el tratamiento. Es conveniente explicar al paciente la importancia del cumplimiento del tratamiento, ya que se ha observado que el porcentaje de respuesta virológica sostenida se incrementa en más del 10% en aquellos enfermos que son capaces de recibir más del 80% de las dosis de peginterferón y ribavirina durante más del 80% del tiempo de tratamiento. Esto es especialmente importante en los pacientes infectados por genotipo 1.

En los pacientes que presentan una respuesta virológica sostenida, esta se mantiene durante un largo período de tiempo superior a 10 años como se comprueba en los estudios de seguimiento prolongado y probablemente la persistencia de la respuesta virológica e histológica supone la curación de la enfermedad (Arroyo,2001).

4.4.2.2 Monitorización y efectos adversos del tratamiento

Antes de iniciar el tratamiento debe de realizarse una historia clínica exhaustiva, y una analítica general que incluyan autoanticuerpos, anticuerpos contra VIH, TSH y prueba de embarazo. Además debe valorarse si existen contraindicaciones para recibir el tratamiento. Las principales contraindicaciones al interferón son la existencia de una enfermedad depresiva o neurológica, la leucopenia, la plaquetopenia, el hipertiroidismo, las enfermedades autoinmunes y el trasplante renal (Bacon,2000).

La necesidad de disponer de una biopsia hepática previa al tratamiento es un tema controvertido. En general, no sólo permite conocer el grado de lesión histológica sino que también ayuda a establecer el pronóstico de la enfermedad. Los pacientes con lesiones de cirrosis hepática son los que presentan una peor respuesta al tratamiento. Además, la biopsia hepática permite el diagnóstico de enfermedades poco frecuentes que pueden asociarse a la hepatitis crónica C como por ejemplo la hemocromatosis.

También se recomienda antes de iniciar el tratamiento, la determinación del genotipo del VHC y el nivel de viremia, ya que son datos que proporcionan información sobre las posibilidades de respuesta al tratamiento y permiten seleccionar a los mejores candidatos y elegir la pauta terapéutica más eficaz en cada situación (Ceredo,2000).

4.4.2.3 Control de tratamiento

Durante el tratamiento se recomienda repetir las determinaciones de TSH cada 3-6 meses, ya que el interferón puede desencadenar alteraciones tiroideas. Además, de

los controles de función hepática se deben realizar hemograma a las 4 semanas del inicio de tratamiento y después cada 6 semanas. Los efectos adversos del tratamiento son los característicos del interferón. Algunos son muy frecuentes y aparecen al inicio del tratamiento como la fiebre, la fatiga, el cansancio, la astenia, la irritabilidad, los cambios de carácter, el insomnio y la caída del cabello.

Más raramente y durante el tratamiento pueden detectarse datos analíticos de supresión de la médula ósea (leucopenia y plaquetopenia) y problemas neuropsiquiátricos (depresión, irritabilidad). Alrededor de un 15% de los pacientes precisan una reducción en la dosis de peginterferón como consecuencia de los efectos adversos y en aproximadamente en el 5% es necesario interrumpir el tratamiento. Otros efectos adversos muy poco frecuentes son las alteraciones tiroideas, hipo o hipertiroidismo, lesiones cutáneas como el liquen plano, crisis convulsivas, la retinopatía y la fibrosis pulmonar (Arroyo,1999).

Los efectos adversos de la ribavirina son el desarrollo de una anemia hemolítica, la genotoxicidad (por lo que se recomienda utilizar medidas contraceptivas tanto en varones como en mujeres), y otros efectos menos frecuentes como el prurito, el rash cutáneo y la tos. Es frecuente con el interferón pegilado, la aparición de reacciones locales en el lugar de su administración, que suelen desaparecer a los pocos días de la inyección, por lo que se aconseja ir cambiando el lugar de la administración (Bacón,2000).

4.4.2.4 Pacientes no respondedores al tratamiento

No existe ninguna alternativa terapéutica eficaz para estos pacientes. En los pacientes previamente no respondedores al interferón pueden ser re-tratados con interferón y ribavirina siendo la tasa de respuesta virológica entre el 15 y el 20%. En los pacientes no respondedores al tratamiento combinado, no esta indicada la asociación de peginterferón y ribavirina, ya que los resultados preliminares muestran una tasa de respuesta muy baja (Ceredo,2000).

4.4.2.5 Pacientes con recidiva tras monoterapia con interferón

En los pacientes con recidiva tras tratamiento con interferón, la terapéutica combinada ofrece resultados excelentes. El método combinado durante 6 meses en los pacientes con respuesta transitoria proporciona una respuesta sostenida del 50% y su prolongación hasta un año incrementa la respuesta hasta el 72 % (Arroyo,1999).

4.4.2.6 Tratamiento en otras situaciones de infección por el VHC

La eficacia y seguridad del terapéutica combinada está estudiándose en pacientes pediátricos. El tratamiento no está indicado en los pacientes con valores persistentemente normales de transaminasas debido a que la enfermedad progresa más lentamente. En los pacientes con cirrosis hepática compensada, el régimen combinado proporciona resultados discretamente inferiores a los observados en los pacientes con hepatitis crónica C. En pacientes con cirrosis descompensada, la experiencia es escasa debido a que en la mayoría de los casos está contraindicado y/o la tolerancia es muy mala.

En los pacientes con manifestaciones extrahepáticas del VHC como crioglobulinemia, vasculitis, glomerulonefritis, pueden mejorar con el uso de interferón, especialmente, si están relacionadas con el depósito de inmunocomplejos. Los pacientes inmunosuprimidos con hepatitis crónica por VHC presentan una progresión más rápida de la enfermedad hepática.

En los pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana con inmunidad celular conservada, el tratamiento con interferón y ribavirina proporciona una tasa de respuesta inferior a la observada en los pacientes no coinfectados. Además puede producirse hepatotoxicidad especialmente al combinar la ribavirina con otros análogos de los nucleótidos, por lo que deben monitorizarse estrictamente. En los pacientes transplantados hepáticos, la reactivación de la infección por VHC puede ser tratada aunque los resultados son limitados y la toxicidad del método es elevada

(Bacon,2000).

4.4.3 Futuro de la terapia de la infección de hepatitis C

No se dispone de una vacuna específica eficaz que ayude a prevenir o erradicar la enfermedad. Tampoco se ha demostrado la eficacia de la inmunoglobulina estándar en la prevención de la hepatitis C postransfusional o la tras punción accidental. El control de la hepatitis C pasa por la prevención primaria y secundaria de la enfermedad y por el tratamiento en los casos indicados.

Existen distintos grupos de pacientes con hepatitis C que no pueden beneficiarse de de las terapias, ya sea por que está contraindicado como en los pacientes con cirrosis descompensada, ó por que su eficacia es muy baja, como en los pacientes trasplantados hepáticos. Existen todavía algunas preguntas sin contestar como son la dosis óptima de peginterferón, la importancia de las dosis de interferón pegilado y ribavirina ajustadas al peso corporal en la respuesta virológica sostenida, etc. Para los pacientes no respondedores al tratamiento combinado todavía no existen alternativas terapéuticas eficaces. Finalmente se necesitan nuevos tratamiento más eficaces, mejor tolerados y de costo más asequible para los pacientes con hepatitis crónica C (Arroyo,2001).

La ausencia de un cultivo celular para el virus de la hepatitis C ha dificultado enormemente el desarrollo de nuevos fármacos antivirales. Recientemente se ha podido construir mediante técnicas de biología molecular un replicón del VHC.

Un replicón es la mínima estructura genética del virus capaz de replicarse por sí misma en las células del huésped. El replicón del VHC construido abarca las regiones 5' y 3', distintas regiones que codifican proteínas no estructurales como la proteasa, helicasas y la RNA polimerasa y una secuencia nucleótida que codifica una proteína marcadora, que se utiliza como indicador de replicación viral. Este replicón permitirá ensayar distintos fármacos como los inhibidores de las proteasas y helicasas, inhibidores de la RNA polimerasa y ribozimas (elmedicointeractivo.com).

El conocimiento de la estructura de NS3 de la helicasa, enzima que se encarga de la separación de los dímeros del RNA durante la replicación viral, ha permitido diseñar inhibidores de la helicasa, que bloquean el proceso de la replicación. También se ha identificado la estructura cristalina tridimensional de la proteasa NS3, que será de gran utilidad para el diseño de inhibidores de la proteasa.

Por ultimo, los ribozimas y la utilización de sondas complementarias de los oligonucleotidos de regiones con escasa variabilidad genética como las regiones 5' y 3' podrían ser de gran utilidad para el desarrollo de nuevos fármacos.

Los nuevos fármacos para la hepatitis C deberían ser de fácil y cómoda administración, preferiblemente por vía oral, sin efectos adversos, por lo tanto la monitorización del tratamiento debería poderla realizar cualquier médico y el costo razonable, por lo que queda todavía un largo camino hasta conseguir estos objetivos (Bacon,2000).

4.4.3.1 Inhibidores de la proteasa en el tratamiento de la hepatitis C

Los inhibidores de la proteasa son medicamentos de usos oral , que de acuerdo a las investigaciones hasta el momento demuestran que en 48 horas llevan el recuento de virus en sangre a valores indetectables. Luego de suspendida la medicación, el recuento de virus vuelve a su estado inicial antes de ingerir el inhibidor.

Con el inhibidor BILN 2061 que ya ha sido probado en la Fase II (en un número reducido de pacientes), ninguno presentó efectos colaterales o adversos, este inhibidor esta pronto a ser probado en la Fase III con un número mayor de pacientes. Es importante de destacar que los inhibidores controlan e inhiben la replicación del virus, pero no lo matan, se debe administrar junto con el interferón y la ribavirina, de esta forma amplían enormemente las posibilidades de acción de esta combinación ó también en aquellas personas que no pueden realizar tratamientos, la administración permanente del inhibidor evitará el aumento del daño hepático (elmedicointeractivo.com).

4.4.3.2 Ácido Ursodesoxicólico

El ácido ursodesoxicólico (UCDA) es un ácido de la bilis altamente hidrofílico, que disuelve el colesterol y la grasa en los intestinos, y cuenta con factores inmuno moduladores. Es una droga aprobada que puede limitar el daño al hígado y el efecto del VHC. Estudios clínicos muestran que el UCDA solo, no reduce significativamente las sumas de carga viral. Estudios adicionales orientan que la terapia combinada de UCDA, interferón y ribavirina puede incrementar la más pronta respuesta al tratamiento. Sin embargo, la combinación no dio resultado en relación con una respuesta negativa a largo plazo, pero es efectiva al reducir el riesgo de recaída después de la monoterapia con interferón. Se ha averiguado que el UCDA, cuando se aplica durante 12 meses, resulta beneficioso para pacientes con hepatitis C crónica con rasgos autoinmunes (Bacon,2000).

Pruebas en 170 pacientes de más de 6 meses indicaron que la combinación de ácido ursodesoxicólico (600 mg/día) y glicirricina es segura y efectiva y mejora los niveles ALT. Esta combinación puede ser una alternativa al interferón en la infección por hepatitis C crónica, especialmente en pacientes inestables o resistentes al interferón.

Alrededor de un 40% de las personas que necesitan un trasplante hepático están infectadas con el virus de la hepatitis C (VHC), según datos estadounidenses. La infección, lejos de solventarse por el trasplante, puede volver a afectar al nuevo órgano en un periodo de tiempo que varía según el caso. Entender la progresión del VHC tras un trasplante ha sido el centro de diversos estudios, enfocados en el análisis de las causas, razones y la utilidad de los fármacos disponibles (www.elmedicointeractivo.com).

5.0 CONCLUSIONES

Todas las afecciones hepáticas tienen un impacto negativo en la calidad de vida del paciente enfermo.

Las hepatitis virales tienen un papel importante en las hepatopatías hasta ahora conocidas a nivel mundial. El estudio y la información de algunas de éstas hepatitis, han ayudado de forma considerable en la prevención y tratamiento, y con esto a una disminución de la mortalidad en muchas regiones.

En la actualidad la hepatitis viral tipo C, ha tenido una alta incidencia a nivel mundial, se considera que el 3 % de la población ésta infectada, y es considerada como la primera causa de hepatopatía crónica en el mundo occidental.

La forma más común de transmisión en los países desarrollados es por vía parenteral, siendo el grupo de mayor riesgo los usuarios de drogas por vía intravenosa, es raro el contagio por transfusión sanguínea, ya que existe un especial cuidado en el manejo de la sangre y sus derivados, el riesgo de contagio por vía sexual es bajo, sin embargo, hay un alto porcentaje de hepatitis crónica de origen desconocido.

Al ser muy poca la sintomatología que se presenta, no es fácil el diagnóstico de ésta enfermedad, ya que es fundamentalmente serológico, basado en la detección de las elevaciones de las transaminasas hepáticas y de los anticuerpos anti-VHC, aunque lo más confiable es la detección del RNA viral, y para éste se aplican técnicas especializadas de biología molecular, que no están disponibles en todos los hospitales y laboratorios clínicos.

Desafortunadamente al ser escasa la información actual, integrada y dirigida a toda la población, de los aspectos importantes de la enfermedad, cómo es la forma de transmisión, síntomas característicos y prevención se dificulta la disminución de la incidencia y con ello la mortalidad que genera ésta a nivel mundial, ya que la que se encuentra en algunos sitios electrónicos no es del todo confiable.

Para disminuir el riesgo de infección y evitar el contagio es importante adoptar una cultura total de la prevención y esto se hace por medio de la información, ya que hasta ahora no se ha encontrado una vacuna eficaz y ningún medicamento capaz de erradicar definitivamente el virus.

Al no tener información básica, disponible y confiable, para poder implementar medidas de prevención a la población, el presente trabajo tuvo la finalidad de mostrar información confiable y actual para ofrecer un panorama amplio de la enfermedad y de ésta manera contribuir a la prevención y con ello disminuir la incidencia en la población mexicana.

6.0 BIBLIOGRAFÍA

Abdo, J. 2003. Hepatitis viral. Ed. El Manual Moderno, México, D.F.

Abe, K., Kurata, T. y Shikata, T. 1989. Non-A, non-B hepatitis: Visualization of virus like particles from chimpanzees and human sera. Arch virol. **104**: 351-355.

Akbar, S.M., Unfi, M., Horuke, N. y Ohta, Y. 1993. Anti HCV immunoglobulin M antibody in patients with acute and fulminant hepatitis C. Gastroenterol Jpn. **28**: 71-75.

Alonso, P., San Miguel, A., Eiros, J., Orduña, A. y Rodríguez, A. 1998. El virus de la hepatitis C. Ed. Secretariado de Publicaciones e Intercambio Científico, Valladolid, España.

Arroyo, V., Bosch, J., Bruguera, M., Rodés, J. y Sánchez, J. 1999. Tratamiento de las enfermedades hepáticas. Ed. Masson, Barcelona, España.

Arroyo, V., Bosch, J., Bruix, J., Gines, P., Navasa, M. y Rodés, J. 2001. Terapéutica en hepatología. Ed. Ars Médica, Barcelona, España.

Bacon, B. y Di Bisceglie, A. 2000. Liver disease, diagnosis and management. Ed. Churchill Livingstone, Pennsylvania, USA.

Battacherje, V., Prescott, LE., Pike, I., Rodgers, B., Bell, H. y Zayadi, AR. 1995. Use of NS-4 peptides to identify type- specific antibody to hepatitis C virus genotypes 1,2,3,4,5 and 6. J Gen Virol. **76**: 1737-1748.

Bradley, D., McCaustland, K., Krawczynski, K, Spelbring, J., Humprey, C. y Cook, EH. 1991. Hepatitis C virus: Buoyant density of the factor VIII-derived isolate in sucrose. J Med Virol. **34**:206-208.

Brillanti, S., Masci, C., Miglioli, M. y Barbara, L. 1993. Serun IgM antibodies to hepatitis

C virus in acute and chronic hepatitis C. Arch Virol Suppl. **8**: 213-218.

Bruguera, M., Bordas, J. y Rodés, J. 1990. Técnicas de exploración y diagnóstico en hepatología. Ed. Salvat, Barcelona, España.

Ceredo, V., Gutierrez, M., Lazos, M. y Sayeg, A. 2000. Hepatología clínica. Diagramas e historia clínicas. Ed. Prado, México, D.F.

Choo, QL., Kuo, G., Weiner, AJ., Overby, LR., Bradley, DW. y Houghton, M. 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. Science **244**: 359-362.

Del Favero, G., Pilotto, A. y Di Mario, F. 1998. Advances in gastroenterology. Gallstone disease in the elderly. Ed. Piccin, Perugia, Italia.

Dusheiko, G., Schmilovitz-Weiss, H., Brown, D., McOmish, F., Yap, PL. y Sherlock, S. 1994. Hepatitis C virus genotypes: an investigation of type-specific differences in geographic origin and disease. Hepatology **19**: 13-18.

Echevarría, J. y León, P. 1995. Aspectos actuales en el diagnóstico de la hepatitis C. Enferm Infecc Microb Clin. **13**:387-389.

Feldman, M., Scharschmidt, B., Sleisenger, M. y Klein, S. 2000. Enfermedades gastrointestinales y hepáticas. Fisiología, diagnóstico y tratamiento. Ed. Panamericana, Buenos Aires, Argentina.

Gamboa, J. y Valencia, P. 2000. Hepatitis. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana, México, D.F.

Geneser, F. 2000. Histología sobre bases biomoleculares. Tercera edición, Ed. Médica Panamericana, México, D.F.

Ham, A. 1998. Histología de Ham. Novena edición, Ed. Oxford University Press, México, D.F.

Hellstron, VB., Sylvan, SPE., Decker, RH. y Sonneborg, A. 1993. Immunoglobulin M reactivity towards the immunologically active región sp 75 of the core protein of hepatitis C virus (HCV) in chric HCV infection. J Med Virol. **39**:325-332.

Herrerías, J. M., Diaz, A., y Jiménez, M. 1996. Tratado de hepatología. Ed. Universidad de Sevilla, Secretariado de Publicaciones, Sevilla, España.

Houghton, M., Weiner, A., Han, J., Kuo, G., Choo, QL. 1991. Molecular Biology of the hepatitis C viruses: implications for diagnosis, development and control of viral disaese. Hepatology **14**: 381-388.

Janot, C., Couroucé, AM., Aqueles, O. y Botte, C. 1992. Etude analytique des trouses de dépistage des anticorps anti-VNH Abbott et Ortho. Rev Fr transf Hémobiol. **35**: 171-182.

Kaito, M., Watanabe, S., Tsukiyama-Kohara, K., Yamaguchi ,K., Kobayashi, Y., Konishi, M. 1994. Hepatitis C virus particle detected by inmunolectron microscopy study. J Gen Virol. **75**: 1775-1760.

Kaplowitz, N. y De Leve, L. 2003. Drug-induced liver disease. Ed. Marcel Dekker, New York, USA.

Krawitt, E. 1999. Medical Management of Liver Disease. Ed. Marcel Dekker, New York, USA.

Liang, J. y Hoffnagle, J. 2000. Hepatitis C Biomedical Research Reports. Ed. Academic Press, New York, USA.

Lok, ASF., Chien, D., Choo, QL., Chan, TM., Chin, EKW. y Ching, IKP. 1993. Antibody response to core, envelope and nonstructural hepatitis C virus antigens: comparison of Immunocompetent and Immunosuppressed patients. Hepatology **18**: 497-502.

Machida, A., Ohnuma, H., Tsuda, F., Munekata, E., Tanaka, T. y Akahone, Y. 1992.

Two distinct subtypes of hepatitis C virus defined by antibodies directed to the putative core protein. *Hepatology* **16**:886-891.

McOmish, F., Chan, SW., Dow, BC., Gillon, J., Frame, WD. y Crawford, RJ. 1993. Detection of three types of hepatitis C virus blood donors: Investigation of type-specific differences in serological reactivity and rate of alanine aminotransferase abnormalities. *Transfusión* **33**:7-13.

Mc Phee, S., Lingappa, V., Ganong, W. Y Lange, J. 2001. Fisiopatología Médica. Una introducción a la medicina clínica. Ed. El Manual Moderno, México, D.F.

Méndez, N. y Uribe, M. 2003. Conceptos actuales en hepatitis C. Ed. Mc Graw- Hill, México, D.F.

Miyamoto, H., Okamoto, H., Sato, K., Tanaka, T. y Mishiro, S. 1992. Extraordinarily low density of hepatitis C virus estimated by sucrose density gradient centrifugation and the polymerase chain reaction. *J Gen Virol.* **73**: 715-718.

Montesano, L., Gutiérrez, M., Bravo, R., Aguilera, O., Sánchez, L. y Soriano, V. 1996. Subtipos del virus de la hepatitis C circulantes en España. Evaluación de varias técnicas de tipificación genética y serológica. Abstract Book of the VII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Torremolinos, May 5-8. **22/9**, p.170.

Pfreundschuh, M y Scholmerich, J. 2002. Fisiopatología y Bioquímica. Ed. Elsevier Science, Madrid, España.

Pontisso, P., Gerotto, M., Chemello, S., Tismnetzky, P., Bonetti, P. y Casarin, C. 1993. HCV genotypes and clinical profile of the infection. International Symposium on viral hepatitis and liver disease. Tokyo. p1-39.

Pozzato, G., Moretti, M. y Franzin, F. 1994. The presence of Japanese type of NS4 region is associated to more severe liver disease. *J Hepatology* 1992, **16**:53.

Robbins, S, Kumar, V y Cotran, R. 2004. Robbins: Patología Humana. Séptima edición, Ed. Elsevier. Madrid, España.

Rodés, J., Benhamou, J., Bircher, J., Mc Intyre, N. y Rizzeto, M. 1993. Tratado de hepatología clínica. Ediciones científicas y técnicas, Masson Salvat Medicina, Barcelona, España.

Sherlock, S. 1990. Enfermedades del hígado y vías biliares. Octava edición, Ed. El Ateneo, Buenos Aires, Argentina.

Simmonds, P., Alberti, A., Alter, HJ., Bonino, F., Bradley, DW. y Brechot, C. A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. *Hepatology*. **19**: 1321-1324.

Simmonds, P., Rose, KA., Graham, S., Chan, SW., McOmish, F. y Dow, BC. 1993. Mapping of serotype-specific immunodominant epitopes in the NS4 region of hepatitis C virus (HCV): use of type specific peptides to serologically differentiate infections with HCV types 1, 2 and 3. *J Clin Microbiol*, **31**: 1493-1503.

Stuyver, L., Van Arnhem, W., Wyseur, A., DeLeys, R. y Maertens, G. 1993. Analysis of the putative E1 envelope and NS4a epitope regions of HCV type 3. *Biochem Biophys Res Commun*. **192**: 635-641.

Takada, N., Takase, S., Enomoto, N., Takada, A. y Date, T. 1992. Clinical backgrounds of the patients having different types of hepatitis C virus genomes. *J Hepatol*. **14**: 35-40.

Takada, N., Takase, S., Takada, A. y Takayasu, D. 1993. Differences in the hepatitis C virus genotypes in different countries. *J. Hepatol*. **17**: 277-283.

Tanaka, T., Tsukiyama-Kohara, K., Yamaguchi, K., Yagi, S., Tanaka, S. y Hasegawa, A. 1994. Significance of specific antibody assay for genotyping of hepatitis C virus. *Hepatology*. **19**: 1347-1353.

- Theo, H. y Cuypers, M. 1994. Detection of hepatitis C virus RNA: Application to diagnostic and research. In: Reesink HW, ed. Hepatitis C virus. Basel, Karger: 49-68.
- Tierney, L., Mc Phee, S. y Papadakis, M. 2003. Diagnóstico y Tratamiento Clínico 2003. Trigésima octava edición, Ed. El Manual Moderno, México, D.F.
- Tortora, G. y Graboski, R. 2002. Principios de Anatomía y Fisiología. Novena edición, Ed. Oxford University Press, México, D.F.
- Tsukiyama-kohara, K., Yamaguchi, K., Maki, N., Ohta, Y., Miki, K. y Mizokami, M. 1993. Antigenicities of group I and II hepatitis C virus polypeptides-Molecular basis of diagnosis. *Virology* **192**: 430-437.
- Vyttendaele, S., Claeys, H., Mertens, W., Verhaert, H. y Vermynen, C. 1994. Evaluation of third-generation screening and confirmatory assays for HCV antibodies. *Vox Sang.* **66**: 122-129.
- Yamada, M., Kakumu, S., Yoshioka, K., Higashi, Y., Tanaka, K. e Ishikawa, T. 1994. Hepatitis C virus genotypes are not responsible for development of serious liver disease. *Dig. Dis Sci.* **39**: 234-239.
- Yoo, BJ., Spaete, RR., Geballe, MS., Houghton, M. y Hau, JH. 1992. 5' end-dependent translation initiation of hepatitis C viral RNA And the presence of putative positive and negative traslational control elements within the 5' untraslated region. *Virology* **191**: 889-899.
- Zaaijer, HL., Mimms, LT., Cuypers, HT., Reesink, HW., Van der Poel, CL. y Taskar, S. 1993. Variability of IgM response in hepatitis C virus infection. *J Med. Virol.* **40**: 184-187.

<http://www.ssa.gob.mx>

<http://www.dgepi.salud.gob.mx>

www.Elmedicointeractivo.com

www.hepatitisc2000.com.ar

www.enfermedadeshepaticas.org/noticia07/html.

www.fundacionmexicanaenfermedadeshepaticas.com.mx